

Intraspezifische Verträglichkeit respektive Unverträglichkeit der Gewebe und Zellen von Podocoryne carnea M.Sars (Cnidaria, Hydrozoa)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II
der
UNIVERSITÄT ZÜRICH

von
MAX BÜHRER
von Neuhausen am Rheinfl

Begutachtet von
Herrn Prof. Dr. P. Tardent

Selbstverlag
Zürich 1981

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Intraspezifische Verträglichkeit respektive Unverträglichkeit der Gewebe und Zellen von Podocoryne carnea M.Sars (Cnidaria, Hydrozoa)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II
der
UNIVERSITÄT ZÜRICH

von
MAX BÜHRER
von Neuhausen am Rheinfall

Begutachtet von
Herrn Prof. Dr. P. Tardent

Selbstverlag
Zürich 1981



Für Kadrei

Es ist mir ein Bedürfnis, allen zu danken, die mich während dieser Arbeit in irgend einer Weise unterstützt und damit zu deren Gelingen beigetragen haben. Dieser Dank geht vor allem an Herrn Prof. Dr. P. Tardent für die Ueberlassung des Themas, die vielen Anregungen und die verständnisvolle Leitung. Dank gebührt auch den Herren Prof. Dr. Volker Schmid und Dr. Thomas Honegger für die wertvollen Ratschläge und ihre stets spontane Hilfsbereitschaft.

Diese Arbeit wurde mit der Unterstützung des "Schweizerischen Nationalfonds zur Unterstützung der wissenschaftlichen Forschung" (Gesuch 3.317-0.78) durchgeführt.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S :

	Seite
1.0.0. E I N L E I T U N G	1
2.0.0. M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	5
2.1.0. MATERIAL	5
2.2.0. METHODEN	5
2.2.1. Versuchsanordnung	5
2.2.2. Gegenüberstellung von intakten Stolonen (S-S)	6
2.2.3. Transplantationsmethoden	7
2.2.4. Dissoziation und Reaggregation	10
2.2.5. Aufzucht und Wartung der Transplantations-Chimären und der Zell-Aggregate	12
2.2.6. Die Aufzucht von neuen Klonen aus Planula-Larven	12
2.2.7. Histologie	13
2.2.8. Statistik	13
3.0.0. R E S U L T A T E	14
3.1.0. INTRA- UND INTERKLONALE VERTRÄGLICHKEITEN INTAKTER GEWEBE	14
3.1.1. Verträglichkeiten von Stolonen	15
3.1.2. Parabiosen zwischen Polypen (Autozoide)	16
3.1.3. Parabiosen zwischen Medusen	18
3.1.4. Parabiosen zwischen Polypen und Medusen	19
3.2.0. INTRA- UND INTERKLONALE VERTRÄGLICHKEITEN DISSOZI- IERTER GEWEBE	21
3.2.1. Reaggregate von Stolonenzellen	22
3.2.2. Reaggregate von Polypenzellen	23
3.2.3. Reaggregate von Medusenzellen	25
3.2.4. Mischaggregate von Polypen und Medusen	27
3.3.0. VERTRÄGLICHKEIT VON EKTO- UND ENTODERM DES POLYPEN	28
3.3.1. Ektoderm-Ektoderm-Chimären	29
3.3.2. Ektoderm-Entoderm-Chimären	30
4.0.0. D I S K U S S I O N	31
5.0.0. Z U S A M M E N F A S S U N G	40
6.0.0. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	42
7.0.0. A B B I L D U N G E N U N D T A B E L L E N	47

1.0.0. E I N L E I T U N G

Im metagenetischen Generationswechsel von zahlreichen marinen Hydrozoa (Cnidaria), so auch vom Versuchsobjekt der vorliegenden Arbeit, Podocoryne carnea M.Sars (Anthomedusae), lösen sich zwei, hinsichtlich ihrer Gestalt und Struktur, wie auch bezüglich ihrer Oekologie, verschiedenartige Erscheinungsformen ab (Tardent 1978): Die benthisch lebende, sich vegetativ vermehrende Polypengeneration und die aus dieser auf dem Weg eines blastogenetischen Knospungsprozesses hervorgehende, mobile Medusengeneration, die Trägerin der sexuellen Fortpflanzung ist (Abb. 1). In Wirklichkeit liegt noch eine dritte Erscheinungsform vor: Es sind dies die wurzelähnlichen Stolonen der Polypen, mit deren Hilfe sich letztere an der Unterlage verankern. Von diesen drei, innerhalb ein und derselben Art auftretenden, polymorphen Differenzierungsprodukten, nimmt Tardent (1978) an, dass die Stolonen und Polypen, stammesgeschichtlich gesehen, die ursprüngliche und die freischwimmende Meduse eine später entwickelte, höhere Evolutionsstufe repräsentieren.

Die von einem diesbezüglich determinierten, polypoiden Gonozoid ausgehende Entwicklung der freischwimmenden Meduse (Kühn 1910; Berrill 1953; Avset 1961) ist nicht ein morpholaktischer Vorgang, sondern eine echte Neudifferenzierung (Frey 1968; Schmid 1972; Bölsterli 1977; Achermann 1978; Tardent 1978), die nicht nur zu einem gestaltlich andersartigen Individuum, sondern zu einem grundlegend neuen Inventar von medusentypischen Zellen und Zellverbänden führt. Diese blastogenetische Medusenentwicklung, welche sich teils auf Kosten bereits differenzierter, somatischer Zellen des Polypen (Gonozoid), teils unter Mitwirkung von undifferenzierten Reserveelementen (Interstitielle Zellen) abspielt (Bölsterli 1977),

ist nicht irreversibel, sondern kann durch geeignete Manipulationen wieder rückgängig gemacht werden (Frey 1968; Schmid 1972). Diese morphogenetische Plastizität wird ausserdem durch die Tatsache belegt, wonach im Fall der Meduse von Podocoryne carnea durch Transdifferenzierung aus lediglich zwei verschiedenen, somatischen Zelltypen (Entodermzelle und quergestreifte Muskelzelle) ein neues medusoides Individuum zu regenerieren vermag, das in der Lage ist, entwicklungsfähige Gameten zu bilden (Brunnert 1979; Schmid et al 1982).

Interspezifische und auch intraspezifische, d.h. interklonale Gewebeunverträglichkeiten sind bei Cnidaria verschiedentlich nachgewiesen worden (Teissier 1929; Crowell 1950; Hauenschild 1954; Müller 1964; Théodor 1966; Kolenkine 1967; Noda 1970; Bibb & Campbell 1973; Stidwill 1981). Die damit verbundenen Reaktionen reichen von einer folgenlosen Trennung der in Parabiose vereinigten Partner (Tardent 1954; Artmann 1969), bis zur ein- oder gegenseitigen Zerstörung von Zellen und Geweben der gegenübergestellten Kontrahenten (Théodor 1966; Ivker 1972; Bühner 1975).

Bei Podocoryne carnea M.Sars (Hydrozoa, Anthomedusae) sind interklonale (heteroklonale) Unverträglichkeiten bisher lediglich auf der Realisationsstufe der Stolonen festgestellt worden (Ess 1970; Jauch 1977). Sie äussern sich darin, dass, im Gegensatz zu intraklonalen Begegnungen, klonfremde Stolonen miteinander keine Anastomosen bilden. Ein analoges Verhalten der Stolonen, dem nachgewiesenermassen eine genetische Ursache zu Grunde liegt (Hauenschild 1956) und das geschlechtsunabhängig ist, war zuvor bereits bei der nah verwandten Art Hydractinia echinata Flemm. wiederholt nachgewiesen worden (Teissier 1929; Crowell 1950; Hauenschild 1954, 1956; Müller 1964; Toth 1967; Ivker 1972), ohne dass es bisher gelungen wäre, die molekularen Mechanismen aufzudecken, die für die Erkennung von "fremd" bzw. "nicht fremd" in diesen Fällen ver-

antwortlich sind.

Die vorliegende Arbeit hat sich die experimentelle Klärung der folgenden Problemkreise zur Aufgabe gestellt:

1. In Anbetracht, dass bei Podocoryne carnea drei verschiedene Realisationsstufen, bzw. Erscheinungsformen, d.h. Stolonen, Polypen und Medusen existieren, drängt sich die Frage auf, ob sich die auf dem Niveau der Stolonen festgestellte, interklonale Unverträglichkeit auch auf den beiden anderen Stufen (Polyp, Meduse) manifestiert und wenn ja, in welcher Form sie sich dort äussert.
2. Da der Entwicklungszyklus ein und derselben Art die drei polymorphen Erscheinungsformen einschliesst, und da der Uebergang von der einen zur anderen, insbesondere vom Polypen zur Meduse, auf einer "de novo" Differenzierung beruht, darf man sich fragen, ob diese Neudifferenzierung unter Umständen so weit geht, dass sie zu einer Unverträglichkeit zwischen der erzeugenden Struktur (Gonozoid) einerseits und deren Differenzierungsprodukt (Meduse) andererseits führt. Mit anderen Worten: Erkennen die medusoiden Gewebe jene des Polypen, aus dem sie durch einen komplexen, blastogenetischen Differenzierungsprozess hervorgegangen sind, als "nicht fremd" oder als "fremd".

Für die experimentelle Bearbeitung dieser Fragen wurden zwei verschiedene Klone der gonochoristischen Podocoryne carnea verwendet, von denen der eine männlichen, der andere weiblichen Geschlechts war. Diese unterschiedlichen und im Fall von Podocoryne stabilen, geschlechtlichen Funktionszustände dienten als willkommener Marker.

Das Vorgehen stützt sich auf zwei grundsätzlich verschiedene, experimentelle Verfahren: Das eine war darauf bedacht, bei der Konfrontation gleicher oder verschiedenartiger Erscheinungsformen die Integrität und die normale Architektur ihrer Gewebe möglichst zu wahren. Im Fall der Stolonen, die

sich nicht transplantieren lassen, wurde die angestrebte Situation durch Zufallskollisionen auswachsender Stolonenspitzen mit anderen Teilen von Stolonensystemen herbeigeführt, während Teile von Polypen und Medusen auf dem Weg des klassischen Transplantationsverfahrens untereinander in Parabiose versetzt werden konnten.

In einer zweiten Versuchsgruppe wurde die Integrität der Gewebe absichtlich zerstört. Die durch Dissoziation erhaltenen Zellsuspensionen wurden dann, je nach Fragestellung, intra- oder interklonal, oder homo- bzw. heterotypisch miteinander gemischt, zur Bildung von Mischaggregaten veranlasst und auf eventuelle Segregationerscheinungen und Regenerationsleistungen hin geprüft.

Mit der Transplantationstechnik konnten das Erkennen von "fremd" oder "nicht fremd" und die daraus resultierenden Reaktionen auf dem Niveau der in ihrem Aufbau unbeeinträchtigten Organe und Zellverbände untersucht werden, wobei sich die zu erwartenden Interaktionen zwischen den Partnern räumlich auf die Verwachsungsnähe zwischen Wirt und Implantat beschränken. Mit dem Dissoziations- und Reaggregationsverfahren hat sich jede Einzelzelle mit gleich- oder fremdartigen Zellen auseinanderzusetzen. Zusätzlich wird ihnen während der Reaggregation und den eventuell anschliessenden Regenerationsprozessen eine weit grössere Leistung abverlangt als im Fall der erstgenannten Parabiose.

2.0.0. MATERIAL UND METHODEN

2.1.0. MATERIAL

Die für die Versuche verwendeten Klone der getrenntgeschlechtlichen Hydrozoenart Podocoryne carnea M.Sars stammen alle aus der Bucht von Neapel. Einige dieser Klone wurden schon während Jahren in künstlich hergestelltem Meerwasser ("WIMEX", Aquarien-Grosshandel, H. Wiegandt, D-4150 Krefeld) auf Objektträgern (Bravermann 1962) bei 15°C und einem 12-stündigen Hell-Dunkel-Wechsel gehalten. Die in gläsernen Einsätzen von Färbecuvetten aufgereihten Objektträger mit den beiden darauf angesiedelten Versuchsklonen (Klon 6♀ und Klon 2♂) standen in gut durchlüfteten Aquarien mit je 50 Litern Inhalt.

Die Klone wurden dreimal wöchentlich mit frisch geschlüpften Larven von Artemia gefüttert.

2.2.0. METHODEN

2.2.1. Versuchsanordnung

Die in dieser Arbeit im Rahmen von Transplantations- und Reaggregationsexperimenten durchgeführten Kombinationen intra- und interklonaler Gegenüberstellungen sind in Abb. 1 dargestellt.

Die Kombinationen Stolonen-Polyp und Stolonen-Meduse konnten im Parabioseexperiment nicht geprüft werden, weil sich das schwer von der Unterlage zu lösende und leicht zerfallende Stolonenmaterial nicht transplantieren liess. Ausserdem widersetzt sich das, vom Stolonen-Ektoderm ausgeschiedene, cuticuläre Periderm einer engen Kontaktnahme und Verwachsung

mit anderen Geweben.

Im Sinne einer Vereinfachung werden die Komponenten, deren Kombinationen, sowie das gewählte methodische Verfahren, in dieser Arbeit durch folgende Symbole gekennzeichnet: Die Zahl 2 identifiziert den männliche Klon Nr. 2, die Zahl 6 den weibliche Klon Nr. 6. Für die Realisationsstufen Stolon (S), Polyp (P) und Meduse (M) werden die in Klammern gesetzten Abkürzungen verwendet, wobei, im Fall der durch Transplantation herbeigeführten Parabiose, der an erster Stelle erwähnte Buchstabe dem Implantat, der zweite dem Wirt entspricht. Das Aggregationsverfahren bzw. die Transplantationsmethode sind mit einem vorgestellten A bzw. T bezeichnet. (Beispiel T P₆-M₂: Transplantation eines Polypen des weiblichen Klons 6 an eine Meduse des männlichen Klons 2).

2.2.2. Gegenüberstellung von intakten Stolonen (S-S)

Da die auf dem Substrat mit Hilfe ihrer Peridermhülle fest verankerten Stolonen nicht ohne schwerwiegende Traumatisierung von der Unterlage abgelöst und infolgedessen auch nicht transplantiert werden können, mussten die intra- und interklonalen Reaktionen zwischen intakten Stolonen nach dem von Hauenschild (1954) und Jauch (1977) entwickelten Verfahren geprüft werden. Für diesen Zweck wurden, in einem Abstand von 1-2cm, zwei kleine Gruppen von Polypen, die entweder vom gleichen Klon oder von verschiedenen Klonen isoliert worden waren, auf einem Objektträger fixiert. Jede Gruppe bildete in der Folge ein sich flächenhaft und zentrifugal ausdehnendes Stolonennetz, wobei es im Zwischenbereich zu zahlreichen Kollisionen zwischen auswachsenden Stolonenspitzen der einen Kolonie und Stolonen der benachbarten Kolonie kam. Bildeten sich, nach derartigen, spontanen Kontaktnahmen, zwischen den Kontrahenten Anastomosen, so zeugte dies für Verträglichkeit, blieben Anastomosen aus, lag ein Fall von Unverträglichkeit vor (Jauch 1977).

2.2.3. Transplantationsmethoden

Polypen "inter se" (P-P)

Podocoryne carnea ist, im Gegensatz zu der im Süßwasser lebenden Hydra, eine kolonie- oder stockbildende Hydrozoenart, deren Einzelpolypen durch ein Stolonennetz (Abb. 3) miteinander verbunden sind. Isoliert man einzelne Autozoide, indem man sie an ihrer Basis vom Stolon trennt, so verlieren sie ihre polypentypische Gestalt, verformen sich zu einer Gewebekugel, aus der später Stolonen sprossen, und erst aus diesen entwickeln sich, im Rahmen eines Regenerationsprozesses, neue Polypen (Brändle 1971). Daher konnten die Transplantationen nicht an isolierten Einzelpolypen vorgenommen werden, sondern mussten auf Individuen erfolgen, die Teil einer kleinen Kolonie waren.

Mit einer Pinzettenschere wurden Autozoide, die 2 Tage zuvor gefüttert worden waren, etwa in der Mitte ihrer Rumpfsäule von ihrer basalen Hälfte abgetrennt. Zur Gewährleistung einer erfolgreichen Verwachsung mit dem Empfänger, mussten die Wundränder des Isolates mit einer Pinzette leicht traumatisiert werden. Ein derart vorbereitetes Implantat wurde in ein zuvor in der Rumpfwand des Wirtspolypen vorbereitetes Loch geschoben, wobei die Wundränder von Wirt und Implantat mit einer Pinzette leicht aneinander gepresst werden mussten. Es galt dabei zu beachten, dass die Implantationsstelle und die durch die Amputation entstandene Schnittfläche des Transplantates bezüglich ihrer Position im axialen Gradientensystem (Webster 1971; Wolpert et al 1974) miteinander übereinstimmen. Wäre dies nämlich nicht der Fall gewesen, hätten an der Verwachsungsstelle eventuell unerwünschte, von Unverträglichkeitsreaktionen unabhängige, morphogenetische Regulationsprozesse auftreten können, (Müller 1964), welche die Interpretation des Geschehens erschwert hätten.

Als Wirtspolypen dienten Autozoide, die Teil einer kleinen, aus 10-20 Polypen bestehenden, in einer Halbrundschale (20 ml) angesetzten Kolonie waren.

Medusen "inter se" (M-M)

Gewebeaustausche zwischen Medusen mussten sich aus technischen Gründen auf die Transplantation des Manubriums (Manugestiel) beschränken. Für diese Versuche fanden frisch vom Gonozoid abgelöste, einmal gefütterte Medusen Verwendung. Durch Ausübung eines leichten Druckes auf den Apex der Schwimglocke (Umbrella) der Meduse mittels einer stumpfen Pinzette konnte eine teilweise Umstülpung dieses Organs erzielt werden, wobei das Manubrium aus dem Glockeninneren herausttrat, sodass es, mittels einer Pinzettenschere, amputiert werden konnte (Abb. 2a). Für die Transplantation wurden derart isolierte Manubrien mit einer Pinzette an ihrer Basis angefasst und bei einer Wirtsmeduse, deren Manubrium zuvor auf identische Weise entfernt worden war, an deren Amputationsstelle transplantiert. Die leicht traumatisierten Wundränder des Transplantates wurden hernach, mit einer zweiten Pinzette von der exumbrellaren Seite der Glocke her, kurz in der gewünschten Position an den Empfänger gepresst (Abb. 2b). Bei unpräziser Amputation blieben gelegentlich basale Reste des Wirtsmanubriums stehen, oder das Implantat verwuchs nicht genau im Zentrum der Wirtsmeduse, sondern etwas seitlich an einem ihrer Radiärkanäle. In solchen Fällen konnte neben dem Implantat ein zweites, durch die Wirtsmeduse regenerativ erzeugtes Manubrium entstehen. Wichtig für den Erfolg dieser Manipulation war, dass das Gastrovascularsystem (Radiärkanäle) der Wirtsmeduse mit dem implantierten Manubrium Kontakt aufnahm, sodass dessen Verdauungskammer mit dem peripheren Verteilersystem des Wirts kommunizierte. Dies konnte bereits am 1. postoperativen Tag überprüft werden, indem das Transplantat gefüttert wurde. Eine erfolgreiche Integration des letzteren in den Wirt war

dadurch gekennzeichnet, dass die verdaute Nahrung in die Radialkanäle übertrat.

Medusen-Polypen (M-P) (heterotypische Kombination)

Kleinwüchsige Polypen (Autozoide), von der annähernden Grösse eines Medusen-Manubriums, wurden mit einer Pinzettenschere nahe ihrer Basis vom Stock isoliert und, ähnlich wie im soeben beschriebenen Vorgehen (M-M), an die Stelle eines zuvor amputierten Manubriums einer Wirtsmeduse implantiert. Die polypoiden Implantate durften nicht zu gross gewählt werden, da sonst die Schwimmbewegungen der Meduse so stark behindert wurden, dass letztere am Boden des Gefässes liegenblieb und innerhalb weniger Tage zugrunde ging (Schmid & Tardent 1969).

Auch diese Versuchsserie war darauf bedacht, dass eine Verbindung zwischen den Gastrovascularsystemen des Polyps und der Wirtsmeduse zustande kam.

Die reziproke Kombination, Meduse(Donor)-Polyp(Wirt), wurde im Rahmen meiner Diplomarbeit (Bührer 1975) bereits ausgeführt und soll hier nicht mehr beschrieben werden.

Kombination von Polypenektoderm und -entoderm

In einer besonderen Versuchsserie wurden, zuvor isolierte, intakte Ektoderm-Epithelien und Entodermschichten von Polypen verschiedenen Ursprungs miteinander rekombiniert, wobei die Mesogloia immer entfernt wurde. Die Isolation der beiden Schichten wurde nach der von Achermann (1980) beschriebenen Methode durchgeführt. Bei der Rekombination von Ekto- und Entoderm wurden grössere Zellverbände des letzteren in ringförmige Ektodermisolate eingehüllt. In dieser Konstellation vermochte das Ektoderm innerhalb eines Tages das Entoderm vollständig zu umschliessen.

In einer weiteren Versuchsgruppe wurden isolierte, schlauchförmige Ektodermstücke einander gegenübergestellt.

Zu diesem Zweck wurden sie auf einer Glaskapillare (Durchm. ca. 0.2mm) aneinandergeschoben. Bereits nach 3 Stunden waren die ektodermalen Fragmente an der Kontaktstelle so gut miteinander verwachsen, dass die als Stütze dienende Glaskapillare entfernt werden konnte.

2.2.4. Dissoziation und Reaggregation

Gewinnung des Zellmaterials

Das im azellulären Peridermrohr der Stolonen enthaltene, ekto- und entodermale Zellmaterial wurde wie folgt gewonnen: Bei gut entwickelten Polypenstöcken wurde ein Schnitt durch deren dichtes Stolonennetz geführt. Mittels einer abgebogenen Glaskapillare wurde ein mechanischer Druck auf die umliegenden Stolonen ausgeübt, was zur Folge hatte, dass das Zellmaterial durch die angeschnittenen Peridermrohre austreten, mit einer Pipette aufgenommen und für die weitere Dissoziation isoliert werden konnte.

Im Fall der Polypen wurden je Arbeitsgang jeweils 5 Individuen (Autozoide) gut gefütterter Kolonien nahe ihrer Basis abgetrennt und samt ihren Tentakeln dissoziiert.

Frisch abgelöste Medusen wurden gefüttert und einen Tag später ganz, zu Proben von je 10 Individuen verarbeitet.

Dissoziationsmethoden

Das nach den beschriebenen Methoden isolierte Material wurde, unter Anwendung von 3 verschiedenen Verfahren, die durchaus vergleichbare Erfolge zeitigten, in Einzelzellen zerlegt:

- a) Die Dissoziation erfolgte in einem 1 ml fassenden Zentrifugenröhrchen rein mechanisch, indem die Fragmente wiederholt durch die Spitze einer engen, frisch gebrochenen Pipette eingesogen bzw. wieder ausgespresst wurden.
- b) Die Fragmente wurden während 15 Min. in Ca^{++} - Mg^{++} -freiem

Meerwasser nach Humphreys (1963) vorbehandelt und anschliessend wie auch in a) noch mechanisch dissoziiert.

c) Erwärmung der Fragmente während 20 Min. auf 35°C (Schmid et al 1981) und dann mechanische Behandlung wie a).

Die Methoden b) und c) bieten insofern Vorteile, als sie die nachfolgende, mechanische Dissoziation, wenn nicht erübrigen, so doch erleichtern und damit auch die Zahl der mechanisch geschädigten Zellen auf ein Minimum zu senken helfen.

Zur Entfernung grösserer Zellklumpen, sowie der meist nicht zerfallenen Polypen- und Medusententakel, wurden solcherart hergestellte Zellsuspensionen durch ein Nylogewebe filtriert.

Reaggregation

Die so gewonnenen Proben von dissoziierten Zellen wurden, in den in Abb. 1 aufgeführten Kombinationen, miteinander gemischt und zur Reaggregation gebracht, wobei für ein Aggregat P+P die Zellsuspensionen von je 2 mal 5 Polypen, für ein Aggregat M+M von je 2 mal 10 Medusen und für ein Aggregat P+M von je 10 Polypen und 20 Medusen in einem Zentrifugenröhrchen gemischt und während 3.5 Min. bei 2150 g zentrifugiert wurden.

Da der als Marker dienende, geschlechtliche Determinationszustand der Reaktionspartner bekannt war, konnte im späteren Verlauf der Experimente, d.h. sobald die Regenerate die Sexualreife erreicht hatten, überprüft werden, ob Zellen beider Reaktionspartner am Aufbau der Aggregate und deren morphogenetischen Leistungen beteiligt waren.

Nach Zentrifugation wurden die mit Meerwasser aufgefüllten Röhrchen umgekehrt in einen ebenfalls mit Meerwasser beschickten Salznapf gestellt. Die sedimentierten, bereits zu Aggregaten vereinigten Zellen, lösten sich nach ca. 20 Min. selbständig von der Röhrchenspitze und sanken in den Salznapf.

Die anfänglich linsenförmigen Aggregate kugelten sich, unter Entlassung unterschiedlicher Mengen von toten Zellen, innerhalb eines Tages ab.

2.2.5. Aufzucht und Wartung der Transplantations-Chimären und der Zell-Aggregate

Zur Verhinderung von bakteriellen Infektionen wurden sowohl die Transplantationschimären als auch die Zellaggregate in einer milliporfiltrierten (GA 7, Porengrösse 0,3µm, Gelman Instrument Company, USA) Streptomycin-Meerwasser-Lösung (0,1 mg Streptomycin/ml Meerwasser; Streptomycin-Novo, Novo Industri A/S, Kopenhagen) gehalten. Die Transplantationschimären (P-P, M-M, P-M und die Ektoderm-Entoderm-Kombinate) wurden einzeln in 20 ml fassenden Halbrundschaalen bei 15°C aufbewahrt und, nach erfolgter Verwachsung der Parabiosepartner, 3-5 mal wöchentlich mit Larven von Artemia gefüttert.

Die Zellaggregate ihrerseits fanden einzeln in Salznäpfen (5 ml) Aufnahme (15°C). Sobald ein Aggregat Polypen ausgebildet hatte (Abb. 10, 11, 15, 16), wurde diesen ebenfalls Nahrung zugeführt.

Transplantate wie Aggregate wurden täglich auf ihren Zustand und die erbrachten Entwicklungsleistungen hin geprüft.

2.2.6. Die Aufzucht von neuen Klonen aus Planula-Larven

Medusen des Klons 6♀ und 2♂ wurden zu je 10 Individuen in Halbrundschaalen zusammengeführt. Aus den nach der Dunkelperiode ins Wasser entlassenen und daselbst befruchteten Eiern (Segmüller 1981) entwickelten sich innerhalb von 24 h Planularlarven. Diese wurden in Petrischalen überführt, die mit normalem Meerwasser (in Streptomycin-Meerwasser fand nie eine Metamorphose statt) beschickt und mit Objektträgern

ausgelegt waren. Es erwies sich als notwendig, diese Objektträger zuvor während mehrerer Wochen frei in ein Aquarium zu hängen, damit sich auf deren Oberfläche ein Bakterienfilm entwickeln konnte (Müller 1973). Nach dem Festsetzen und der Metamorphose der Planularlarven wurden die Objektträger in Färbecuvetteneinsätze gestellt und, zur Weiterentwicklung der jungen Polypenstöcke, in ein Aquarium (Kap. 2.1.o.) gebracht.

2.2.7. Histologie

Ein Teil der Transplantationschimären, sowie der sich entwickelnden Zell-Aggregate, wurde für histologische Zustandsprüfungen während 1 h in einer 2.5% Glutaraldehyd-Meerwasserlösung bei 4°C fixiert und mit einer 2% OsO_4 -Meerwasserlösung während 1 h nachfixiert. Die mit Aceton entwässerten Präparate wurden anschliessend nach Spurr eingebettet, mit einem Reichert-Ultramikrotom geschnitten (0.5 μm Dicke) und in einer 0.2% wässrigen Toluidinblaulösung gefärbt.

2.2.8. Statistik

Die Angaben der Grössen der Zellaggregate und der Zeiten, die in den Tabellen aufgeführt sind, wurden jeweils über das arithmetische Mittel $\bar{x}$ und die Standardabweichung σ berechnet.

3.o.o. R E S U L T A T E

3.1.o. INTRA- UND INTERKLONALE VERTRÄGLICHKEIT INTAKTER GEWEBE

In einer ersten Versuchsgruppe wurden intakte Gewebe und Zellverbände der 3 Realisationsstufen (Stolon, Polyp, Meduse) in intra- und interklonalen Kombinationen auf ihre Verträglichkeit, bzw. Unverträglichkeit hin geprüft. Die berücksichtigten Kombinationen sind in Abb. 1 aufgeführt, wobei die fehlenden aus technischen Gründen nicht realisierbar waren. So liessen sich Stolonen, wegen der von ihnen ausgeschiedenen, azellulären Peridermhülle (Perisarc), weder mit Polypen noch mit Medusen durch Transplantation in Parabiose versetzen.

Zunächst galt es, 2 verschiedene Klone auszuwählen, die auf der Stufe ihrer Stolonen, unmissverständliche Unverträglichkeitsreaktionen manifestierten. Ausserdem war darauf zu achten, dass von den in Frage kommenden Klonen, das eine männlichen, das andere weiblichen Geschlechts war, damit der sexuelle Funktionszustand, besonders im Fall der Mischaggregat (Kap. 3.2.o.) als verlässlicher Marker dienen konnte. Die Wahl von Klonen, deren Medusen möglichst früh geschlechtsreif wurden, was eine rasche Identifizierung ihres Geschlechts erlaubte, erschien ebenfalls als vorteilhaft.

Diesen gestellten Anforderungen genügten das männliche Klon Nr. 2 und das weibliche Klon Nr. 6, die beide das Ausgangsmaterial für alle durchgeführten Untersuchungen lieferten.

3.1.1. Verträglichkeiten von Stolonen

Stolonen lassen sich nicht transplantieren, sodass die intra- und interklonalen Konfrontationen nach dem bereits von Hauenschild (1954), Müller (1964) und Jauch (1977) praktizierten Verfahren herbeigeführt werden mussten.

In dieser Versuchsreihe wurden 10 intraklonale und 10 interklonale Ansätze vorbereitet (Kap. 2.2.2.). Entsprechende Tests mit Stolonen mussten während der ganzen Arbeit immer wiederholt werden. Sie sollten laufend überprüfen, ob sich im Laufe der Zeit eventuelle Veränderungen bezüglich des interklonalen Verhaltens eingestellt hatten.

In sämtlichen Versuchen, in denen Stolonen des gleichen Klons aufeinander trafen (Abb. 3), resultierten aus diesen Begegnungen Anastomosen (Jauch 1977), sodass sich ein homogenes, ungestörtes Netzwerk von Stolonen bilden konnte. Diese Tatsache zeigt, dass sich die Stolonen innerhalb eines Klons als "nicht fremd" erkennen.

Im interklonalen Stolonenverwachsungstest dagegen konnten niemals Anastomosen nachgewiesen werden. Eine auswachsende, auf einen klonfremden Stolonenabschnitt auftreffende Stolonen spitze, wich diesem stets aus oder wuchs über das Hindernis hinweg, ohne mit diesem zu verschmelzen (Abb. 4b). Im Berührungsbereich der einander gegenübergestellten Klone bildeten sich, in Folge dieses Verhaltens, eigentliche Kampfzonen mit wild durcheinanderwuchernden Stolonenknäueln (Abb. 4a), wie dies Hauenschild (1954), Müller (1964) und Ivker (1972) an Hydractinia echinata bereits beobachten konnten.

Aufgrund dieser Ergebnisse durfte geschlossen werden, dass die beiden geprüften Klone (6♀ und 2♂) auf der Ebene ihrer Stolonen klar unverträglich waren.

Hauenschild (1956) hat bewiesen, dass die bei Hydractinia zwischen klonfremden Stolonen festgestellte Gewebe-unverträglichkeit genetisch festgelegt ist und somit auch auf sexuell erzeugte Tochterklone mendelistisch weitervererbt wird. Ob dies auch für die hier untersuchte Art zutrifft, bildete den Gegenstand einer ergänzenden Versuchsreihe, in der die Nachkommen der beiden Klone auf stolonalem Niveau ihren Eltern gegenübergestellt wurden.

Obwohl hunderte von Planularlarven, die von Medusen der beiden Klone gezeugt wurden, zur Verfügung standen, und optimale Zuchtbedingungen angestrebt wurden (Kap. 2.2.6.), setzten sich nur wenige Larven auf den dargebotenen Objektträgern fest. Davon erschöpfte sich ein grosser Teil in der Ausbildung rudimentärer Stolonen, ohne dass aus diesen je Polypen entstanden wären. Nur 5 Larven vollzogen eine normale Metamorphose, welche die Aufzucht einer entsprechenden Zahl von Tochterklonen ermöglichte.

Die in Tab. 1 zusammengefassten Ergebnisse der durchgeführten Verträglichkeitstests zwischen den Stolonen dieser F_1 -Klone (2x6[1] - 2x6[5]) und jenen ihrer Elternklone (6♀ und 2♂), weisen darauf hin, dass die auf Stolonenbasis festgestellte Unverträglichkeit auch bei Podocoryne eine genetische Grundlage hat, wobei dann angenommen werden muss, dass mindestens einer der Eltern heterozygot ist.

3.1.2. Parabiosen zwischen Polypen (Autozoide)

Zur Prüfung der Verträglichkeit auf dem Niveau der Polypen, wurden distale Hälften von Autozoiden (Fresspolypen) auf Wirtspolypen transplantiert, die Mitglieder eines kleinen Polypenstockes waren (Kap. 2.2.3.).

Intraklonale Parabiosen

Bei den 10 intraklonal transplantierten Kontrollen

integrierten sich alle Implantate problemlos in die Wirtsautozoide und bildeten mit diesen zusammen doppelköpfige, Y-förmige Polypen (Abb. 5). Beide Parabionten nahmen Futter an und schienen sich, während der 4-wöchigen Beobachtungsperiode, in keiner Weise negativ zu beeinflussen (Tab 2). Im Gegensatz zu analogen Versuchen bei Hydra (Brien 1949, Burnett 1961) wanderte die Verwachungsstelle nicht proximalwärts, sondern verharrte auf dem ursprünglichen Axialniveau des Wirtes. In einem Fall (T P₆-P₆) konnte, 11 Tage nach erfolgter Implantation, die Umwandlung des Implantates zum medusenbildenden Gonozoid festgestellt werden, wobei diese Metamorphose nicht auf den Wirt übergriff.

Interklonale Parabiosen

Die 14 interklonal implantierten Donor-Polypen verwuchsen mit den Wirtspolypen ebenso problemlos wie im intraklonalen Fall und konnten zusammen mit dem Wirt gefüttert werden. Dann aber traten bei allen Parabionten schwerwiegende Unverträglichkeitserscheinungen auf (Tab. 2; Abb. 6), die sich darin äusserten, dass zunächst die Tentakel beider Partner resorbiert wurden. In einer zweiten Phase trennte sich das Implantat vom Wirt (Abb. 6b). Diesem Vorgang folgte der Zerfall des abgestossenen Implantats und die Resorption des Wirts durch die Kolonie. In 8 Fällen griff dieses Desintegrationsgeschehen auf Nachbarpolypen des Wirts über, welche, wie dieser, vom Stolonsystem resorbiert wurden (Abb. 6d). In keinem Fall jedoch wirkten sich diese Depressionserscheinungen so weit aus, dass sie zum Tode der ganzen Kolonie geführt hätten.

Die auf dem Niveau der Stolonen festgestellte, interklonale Gewebeunverträglichkeit (Kap. 3.1.1.), konnte somit auch als für die Realisationsstufe der Polypen geltend, nachgewiesen werden.

3.1.3. Parabiosen zwischen Medusen

Anders als bei den Polypen könnten zur Ueberprüfung der Gewebeverträglichkeit an Medusen Einzelindividuen verwendet werden. Wie in Kap. 2.2.3. dargestellt, wurden zu diesem Zweck die Manubrien (Magenstiele) intra- und interklonal ausgetauscht.

Intraklonale Parabiosen

Es wurden die Leistungen von insgesamt 28 intraklonalen Kontrollparabiosen verfolgt. Wie aus Tab. 3 hervorgeht, verhielten sich die mit einem fremden Manubrium versehenen Medusen, mit einer einzigen Ausnahme, völlig normal. Dieses eine Kombinat zerfiel, ohne dass die Ursache hätte ermittelt werden können. Die Gametenbildung der übrigen Individuen erfuhr durch den operativen Eingriff keine Beeinträchtigung. In einigen Fällen war die Transplantation insofern missglückt, als das implantierte Manubrium nicht genau im Zentrum der Glockenhöhle mit dem Wirt verwuchs. Dieser regenerierte in solchen Fällen neben dem Implantat ein zweites, homologes Organ, sodass die Meduse nun über 2 funktionelle Manubrien verfügte.

Interklonale Parabiosen

Von den 34 untersuchten, interklonalen Transplantationsprodukten, litten deren 5 unter Depressionerscheinungen, die in 2 Fällen wieder verschwanden, sodass insgesamt nur 3 Medusen einem frühzeitigen Zerfall anheim fielen (Tab. 3). Alle übrigen Medusen konnten gefüttert werden und verhielten sich wie die Kontrolltiere der intraklonalen Serie.

Auch in dieser Versuchsserie (vgl. intraklonale Parabiosen) regenerierte in einigen Fällen die Wirtmeduse neben dem klonfremden Implantat ein zweites Manubrium, das dem

geschlechtlichen Determinationszustand des Wirtes entsprechende Gameten erzeugte, während das klonfremde Manubrium andersgeschlechtliche Gonaden ausbildete (Abb. 7a). Diese Situation entsprach einem künstlich erzeugten Hermaphroditen, der sowohl Spermatozoen, als auch Eier ins Wasser entliess. Von solchen Individuen konnten "selbstbesamte" Eier gewonnen werden. Wie die histologische Ueberprüfung eines derartigen Individuums ($T_{M_6-M_2}$) zeigte (Abb. 7b-d), hatte sich das implantierte, ursprünglich weibliche Manubrium, nach einer funktionellen, weiblichen, gametogenetischen Phase, zwischen dem 68. und 78. postoperativen Tag, in ein funktionell männliches Organ umgewandelt (siehe 4.o.o.).

In dieser Versuchsserie trat ein zweiter, andersgearteter Fall ($T_{M_2-M_6}$) von künstlichem Hermaphroditismus auf. Ein und dasselbe, seiner Herkunft nach männliche Implantat, produzierte neben Spermatozoen auch Eier. Es muss angenommen werden, dass die der Implantation vorausgegangene Amputation des weiblichen Wirts-Manubriums nicht vollständig war, sodass im Stummel, auf den das klonfremde, männliche Manubrium transplantiert wurde, noch Oogonien oder kleine Oocyten vorhanden waren, deren Reifungsprozess sich ungehindert vollziehen konnte (Abb. 8). Auch in der reziproken Kombination traten analoge Fälle auf.

Diese Versuchsserie hat mit aller Deutlichkeit und wider Erwarten gezeigt, dass klonfremde, medusentypische Implantate von Wirtsmedusen problemlos akzeptiert werden, und dass es, im Gegensatz zu den auf stolonialem und polypoidem Niveau gemachten Feststellungen, zu keinen negativen Interaktionen zwischen den Parabiose-Partnern¹ kommt.

3.1.4. Parabiosen zwischen Polypen und Medusen

Die im Zusammenhang mit der Neudifferenzierung der Meduse stehende Frage, ob zwischen Polyp einerseits und Meduse

andererseits noch Verträglichkeit herrscht, wenn die beiden intraklonal miteinander konfrontiert sind, wurde mit Implantationen von Autozoiden an die Stelle zuvor amputierter Manubrien (Kap. 2.2.3.) zu klären versucht.

In dieser Versuchsserie spielte die Auswahl der zu transplantierenden Polypen eine wesentliche Rolle. Waren diese nämlich zu gross (Abb. 9a), wurden die Schwimmbewegungen der Wirtsmeduse derart behindert, dass eine normale Lokomotion verunmöglicht wurde. Infolgedessen sanken die Medusen auf Grund des Gefässes und desintegrierten zusammen mit dem Implantat (vgl. Schmid & Tardent 1969). Diese methodische Schwierigkeit konnte dadurch überwunden werden, dass als Transplantate sehr kleine Autozoide verwendet wurden, deren Grösse ungefähr jener des amputierten Medusen-Manubriums entsprach (Abb. 9b).

Intraklonale Parabiosen

Die 8 intraklonalen Polypen-Implantate konnten zunächst gefüttert werden. Dass in dieser ersten parabiologischen Phase eine gute Verbindung des Polypen-Gastralraums zum Gastrovascularsystem der Meduse bestand, konnte aufgrund der kurz nach der Fütterung in den Ring- und Radiärkanälen der Meduse erscheinenden Nahrungspartikel festgestellt werden. Nach einiger Zeit jedoch (Tab. 4) wurden die implantierten Polypen von der Wirtsmeduse resorbiert. Das Verschwinden des Implantats war in keinem Fall auf eine Abstossung durch den Wirt zurückzuführen. Nach erfolgter Resorption des heterotypischen Organs regenerierten die Wirtsmedusen an der gleichen Stelle ein Manubrium, das, im Falle von weiblichen Individuen, später entwicklungsbereite Eier produzierte.

Die Beseitigung des atypischen, jedoch intraklonalen Implantats, kann im vorliegenden Fall nicht als Folge einer echten Unverträglichkeitsreaktion gewertet werden (Kap. 4.3.3.).

Interklonale Parabiosen

Auch die 8 interklonal in Medusen implantierten Polypen (Abb. 9b) konnten zunächst gefüttert werden, bevor sie, wie im intraklonalen Fall, durch die Wirtsmeduse resorbiert wurden. Anschliessend fielen aber sämtliche Wirtsmedusen fortschreitenden Depressionerscheinungen zum Opfer. Diese äuserten sich zunächst in einer Deformation der Medusenstrukturen (Abb. 9c) und endeten mit dem Tod der Meduse (Tab. 4).

Es liegt hier, im Vergleich mit den interklonalen Interaktionen der Polypen (Kap. 3.1.2.), ein etwas andersgearteter Fall von Unverträglichkeit vor. Die Meduse scheint das klonfremde Implantat nicht als solches zu erkennen und stösst es nicht ab. Es resorbiert jedoch das Implantat aus noch zu erläuternden Gründen (Kap. 4.0.0.), wobei das resorbierte Zellmaterial nun seinerseits einen Tötungseffekt auf die Meduse auszuüben scheint.

3.2.0. INTRA- UND INTERKLONALE VERTRÄGLICHKEIT DISSOZIIERTER UND REAGGREGIERTER GEWEBE

In einer zweiten Versuchsgruppe galt es festzustellen, ob Einzelzellen, die aus dem normalen Verband herausgelöst und in eine neue Umgebung versetzt werden, dieselben Verträglichkeits- resp. Unverträglichkeitsreaktionen zeigen, wie dann, wenn sie Bestandteile eines intakten Gewebes sind (Kap. 3.1.0.). Zu diesem Zweck wurden Stolonen, Polypen und Medusen dissoziiert und aus den gewonnenen Zellsuspensionen intra- und interklonale sowie homo- und heterotypische Mischaggregate hergestellt und deren morphogenetischen Leistungen geprüft.

In allen Fällen bildeten sich, gemäss dem beschriebenen

Vorgehen (Kap. 2.2.4.), grössere und kleinere Zell-Aggregate (Abb. 10-14), deren Volumen zwischen 0.21 und 0.74 mm^3 schwankte. Die Aggregate waren zunächst linsenförmig und formten sich nach und nach zu kleinen Kugeln um, wobei es ausnahmslos zur Segregation von entodermalen und ektodermalen Zellen kam, wodurch die räumliche Anordnung der beiden Zellschichten in den Normalzustand überführt wurde.

3.2.1. Reaggregate von Stolonzellen

Stoloniale Zellen wurden in intraklonaler ($n=10$) und interklonaler ($n=11$) Kombination zur Reaggregation gebracht, wobei die kugelförmigen Aggregate, nach anfänglicher Abstossung peripher gelegener und toter Zellen, ein durchschnittliches Volumen von $0.74 \pm 0.32 \text{ mm}^3$ ($n=12$) erreichten.

Intraklonale Aggregate

Die 10 Aggregate kugelten sich alle innerhalb von 24 h ab. Während eines davon in diesem anfänglichen Zustand verharrte und keine weiteren Leistungen erbrachte, sonderte das Ektoderm der übrigen Exemplare nach aussen Periderm ab, mit dessen Hilfe sich die Aggregate an der Unterlage verankerten, indem das azelluläre Periderm als Kittsubstanz wirkte. Wie der Tab. 5 zu entnehmen ist, entwickelten sämtliche Aggregate Stolonen, aus denen Polypen sprosseten (Abb. 10), sodass aus jedem Aggregat eine neue Polypenkolonie entstand.

Interklonale Aggregate

Von den 11 interklonalen Aggregaten erbrachte eines keine weiteren Leistungen, während sich die restlichen 10 genau gleich verhielten, wie die aus intraklonaler Kombination entstandenen Exemplare (Tab. 5; Abb. 10). Schlussendlich konnten 7 Stöcke aus diesen Aggregaten hochgezogen werden, die im Stolonentest (Kap. 2.2.2.) alle auf ihre Verträglichkeit, bzw. Unverträglichkeit gegenüber den beiden Klonen 2♂ und 6♀ hin

geprüft wurden. Fünf dieser Mosaikkclone waren verträglich mit Klon 2♂, anastomosierten aber nicht mit Klon 6♀, ein Mosaikk-
klon verhielt sich umgekehrt und ein anderer erwies sich als mit beiden Klonen verträglich.

Die in Kap. 3.1.1. nachgewiesene Unverträglichkeit zwischen Stolonen der beiden Ausgangsklone 2♂ und 6♀, äusserte sich im Reaggregationsexperiment nicht mehr. Die klonfremden Zellen waren imstande, morphogenetisch in harmonischer Weise zusammenzuarbeiten. Dass diese Zusammenarbeit in der regenerativen Neubildung von Stolonen und Polypen tatsächlich stattgefunden hat, und dass die Zellen des einen Klons im Verlauf der Morphogenese nicht durch das andere verdrängt, oder sogar beseitigt wurden, lässt sich aus der Tatsache ableiten, dass eines der Mosaikkclone mit beiden "Elternklonen" verträglich war (vgl. Kap. 3.2.2.).

3.2.2. Reaggregate von Polypenzellen

In analoger Weise wurden autozoide Polypen in Einzelzellen zerlegt, in dieser Form intra- und interklonal gemischt und zur Reaggregation gebracht (Kap. 2.2.4.). Da die Dissoziation von Polypen beschwerlicher war und während des Prozesses wesentlich mehr Zellen zerstört wurden als im Fall der Stolonen, fielen die gewonnenen Aggregate auch wesentlich kleiner aus ($0.35 \pm 0.21 \text{ mm}^3$ [n=24]). Sofern sie sich überhaupt weiterentwickelten, verhielten sie sich grundsätzlich wie die Stolonenaggregate (Kap. 3.2.1.), d.h. sie kugelten sich in einer ersten Phase ab und schieden azelluläres Periderm aus, mit dem sie sich am Glas befestigten.

Intraklonale Aggregate

Fünf der insgesamt 20 Aggregate zerfielen, ohne irgend eine morphogenetische Leistung erbracht zu haben. Die rest-

lichen 15 Aggregate verankerten sich mit dem neugebildeten Periderm auf der Unterlage. Fünf blieben auf diesem Entwicklungsstadium stecken, während die übrigen 10 Stolonen erzeugten, aus denen in 6 Fällen Polypen sprosseten (Tab. 6). Diese konnten zu normalen Stöcken hochgezogen werden.

Interklonale Aggregate

Sechs der 11 interklonal hergestellten Aggregate blieben, ausser dass sie zur Bildung von Periderm schritten, morphogenetisch inaktiv und zerfielen in unterschiedlichen Zeitabständen. Die restlichen 5 Aggregate fixierten sich mit dem Periderm auf der Unterlage. Drei davon bildeten noch Stolonen (Tab. 6), wobei eines, wahrscheinlich seiner geringen Grösse wegen, zu keinen weiteren Entwicklungsleistungen befähigt war. Das zweite zeugte wohl noch eine Polypenknospe, die aber nicht mehr voll ausdifferenziert werden konnte. Die Zellmasse nahm in der Folge kontinuierlich ab, sodass nach 50 Tagen nur noch das leere Stolonenperiderm übrig blieb. Das letzte Aggregat (Abb. 11a-c) entwickelte sich zu einer kleinen Polypenkolonie, die, 153 Tage nach Reaggregation, die ersten Medusen entliess. Wie histologisch nachgewiesen werden konnte, waren die Medusen Simultanzwitter (Abb. 11e-g), was dafür zeugt, dass Zellen der beiden verschiedengeschlechtigen Klone am Aufbau dieser Kolonie beteiligt waren. Von isoliert gehaltenen Medusen konnten selbstbefruchtete Eier gewonnen werden, aus denen sich Planularlarven entwickelten. Die Stolonen dieser Mosaikkolonie waren mit jenen der beiden "Elternklone" 2♂ und 6♀ verträglich (Stolonentest, Kap. 2.2.2.).

Obwohl diese Serie, der Kleinheit der Reaggregate wegen, von zahlreichen Misserfolgen gekennzeichnet ist, zeigen die wenigen Aggregate, welche morphogenetische Leistungen zu erbringen im Stande waren, dass interklonal gemischte Polypenzellen wie jene der Stolonen harmonisch zusammenarbeiten, ohne dass es zu Unverträglichkeitsreaktionen gekommen wäre.

Dieser Befund steht somit im Gegensatz zu den bei parabio-tisch konfrontierten Polypen gemachten Beobachtungen (Kap. 3.1.2.).

3.2.3. Reaggregate von Medusenzellen

Zellsuspensionen von Medusenzellen wurden in intra- und interklonalen Kombinationen miteinander gemischt. Die daraus entstandenen Mischaggregate wiesen ein durchschnittliches Volumen von $0.21 \pm 0.13 \text{ mm}^3$ ($n=17$) auf. Im Gegensatz zu den stolonialen und polypoiden Aggregaten, wurde, nach der Segregation von Ekto- und Entoderm, keine Peridermhülle ausgeschieden, sodass sich die Aggregate nicht an der Unterlage befestigen konnten. Wenn immer sich eine Differenzierung, bzw. Weiterentwicklung des Aggregates anzeigte, bildete dessen Ektoderm äussere Flagellen, durch deren Aktivität das Aggregat in rotierende Bewegungen versetzt wurde. Diese Flagellenbildung ist bereits von Schmid (1974) im Falle isolierter Umbrellarmuskulatur der Meduse beschrieben worden.

Intraklonale Aggregate

Insgesamt wurden 43 intraklonale Aggregate hergestellt, wovon 5 frühzeitig desintegrierten. Die restlichen 38 regenerierten, nachdem ihr Ektoderm Flagellen ausgebildet hatte, in mehr oder weniger chaotischer Anordnung, einzelne Tentakel, die als Umbrellartentakel der Meduse identifiziert werden konnten, sowie ganze, funktionelle Manubrien, welche dargebotene Nahrung aufnahmen. Die somatischen Differenzierungsleistungen waren somit rein medusentypisch, d.h. es wurden keine stolonialen oder polypoiden Strukturen realisiert. Neben diesen somatischen Entwicklungsleistungen erzeugten die Aggregate, je nach ihrem geschlechtlichen Determinationszustand, Eier oder Spermatozoen (Tab. 7). Zehn dieser medusoiden Gebilde zerfielen noch innerhalb der 3 Wochen dauernden Beobachtungszeit.

Interklonale Aggregate

Aehnliche Resultate wie in der intraklonalen Serie, zeitigten auch die 24 interklonalen Kombinate. 4 Aggregate zerfielen, ohne eine Entwicklungsleistung erbracht zu haben, während die 20 restlichen ebenfalls Flagellen, Tentakel, Manubrien und Gameten ausbildeten (Tab. 7; Abb. 12, 13). In 2 Fällen produzierten isolierte Aggregate befruchtete Eier, aus denen sich Planularlarven entwickelten, was auf das Vorhandensein von reifen Gameten beider Geschlechter in ein und demselben Regenerat hinweist. Histologische Untersuchungen bestätigten, dass alle Medusenaggregate stets reife Gameten enthielten (Abb. 13a,b), deren Nachweis im lebenden Zustand, ihrer verstreuten Anordnung wegen, aber mit grossen Schwierigkeiten verbunden war. Von den 20 zuletzt erwähnten Fällen, zerfielen 8 weitere während der 3-wöchigen Beobachtungszeit.

Medusenzellen zeigten somit weder bei interklonaler Parabiose (Kap. 3.1.3.) noch im Falle von interklonalen Mischaggregaten, irgendwelche Anzeichen von Unverträglichkeit auf dem Niveau der Zellen oder der Gewebe. Dass es sich in der heteroklonalen Kombination um echte Mischaggregate gehandelt hat, bewies wiederum das Zwittertum der Aggregate. Andererseits zeigt der Versuch, dass der Ablauf der Gametogenese nicht an die Integrität des Medusenindividuums gebunden ist und sich auch in einer ungeordneten Situation abzuspielen vermag.

Eine weitere bedeutsame Feststellung besteht darin, dass Aggregate von Medusenzellen ausserstande sind, Gestalt und Bau der normalen Meduse regenerativ wiederherzustellen. Die diesbezüglichen Leistungen beschränken sich auf die Rekonstitution von einzelnen Organen (Tentakel, Manubrium), die in chaotischer Anordnung angelegt werden.

3.2.4. Mischaggregate von Polypen und Medusen

Die durch die Transplantationsversuche negativ beantwortete Frage, ob sich die Gewebe von Polypen und Medusen als fremd erkennen und darauf reagieren, sollte in dieser Versuchsserie auf zellulärer Ebene überprüft werden. Auch galt es festzustellen, ob die bei Stolonen-, Polypen- und Medusenaggregaten beobachtete, interklonale Verträglichkeit auch im heterotypischen Fall, also nach Mischung der Zellen von 2 verschiedenen Erscheinungsformen (Polyp, Meduse), gilt.

Zu diesem Zweck wurden Zellsuspensionen von dissoziierten Polypen und solche von Medusen miteinander gemischt und intra- sowie interklonal zur Reaggregation gebracht (Kap. 2.2.4.). Die so hergestellten Aggregate wiesen ein Volumen von $0.43 \pm 0.13 \text{ mm}^3$ ($n=17$) auf.

Neben 20 intraklonalen wurden 23 interklonale Mischaggregate untersucht, die sich bezüglich ihres Verhaltens und ihrer morphogenetischen Leistungen in keiner Weise voneinander unterschieden (Tab. 8). Nach der Erstellung der Kugelform und der Ausbildung von schlagenden Flagellen konnte ähnlich wie bei Medusenaggregaten, die Differenzierung medusentypischer Strukturen (Tentakel, Manubrien; Abb. 14a,b) festgestellt werden, wobei bei den intraklonalen Aggregaten auch Gameten zur Ausbildung kamen. Diese medusoiden Strukturen wurden jedoch in unterschiedlichen Zeitabständen (ca. 20 Tage nach Reaggregation, Tab. 8) vom Aggregat wieder resorbiert, dessen Ektoderm anschliessend mit der Ausscheidung von Periderm begann. Damit war eine zweite Phase eingeleitet, in der stoloniale und polypoide Strukturen realisiert wurden. Nur in einem einzigen Fall jedoch kam es zur Entwicklung eines zwerghaften Polypen (Abb. 14c), der rasch wieder eingeschmolzen wurde. An sämtlichen Aggregaten bildete sich letztlich eine blasig-runzelige Hülle aus totem Zellmaterial. Im Innern konnten, neben vielen toten Zellen, histologisch nur

noch einige wenige überlebende Zellen nachgewiesen werden.

Diese Versuchsreihe zeigt, dass es weder im intra- noch im interklonalen Fall zu einer Segregation von polypoiden und medusoiden Zellen kommt und dass deren Zusammenarbeit auf die Dauer nicht möglich ist. Zunächst dominieren die Medusenzellen, indem sie, vermutlich ohne Beteiligung der polypoiden Elemente, medusentypische Differenzierungsprodukte bilden. Dass die Polypenzellen in dieser Phase nicht beseitigt oder abgetötet werden, dafür zeugen die polypentypischen Syntheseprodukte (Periderm) und Regenerate, die in einer zweiten, dem allgemeinen Zerfall vorangehenden Phase, zur Ausbildung kommen.

Von einer eigentlichen, heterotypischen Unverträglichkeit kann weder hier noch im Fall der Polypen-Medusen-Parabiose (Kap. 3.1.4.) gesprochen werden. Die "Inkompatibilität" scheint hier vielmehr auf der Unfähigkeit der sich in unterschiedlichen Determinations- bzw. Differenzierungszuständen befindlichen Zellen zu beruhen, gleichzeitig ein gemeinsames, morphogenetisches Produkt zu realisieren. Zerfall und Tod sind die Konsequenz dieser Konfliktsituation, in der sich offenbar weder der eine noch der andere Partner, z.B. durch Transdifferenzierung, dem andern anzupassen vermag.

3.3.o. VERTRÄGLICHKEIT VON EKTO- UND ENTODERM DES POLYPEN

Nachdem die Transplantationsexperimente (Kap. 3.1.1.; 3.1.2.) und die Reaggregationsversuche zum paradoxen Ergebnis geführt haben, wonach im ersten Fall sowohl Polypen als auch Stolonen interklonal miteinander unverträglich sind, in Mischaggregaten jedoch nicht (Kap. 3.2.1.; 3.2.2.), stellt sich die berechnigte Frage, wie die beiden Keimschichten, Ekto- und Entoderm der Polypen, diesbezüglich zueinander stehen. Unter Anwendung der von Achermann (1980) entwickelten Methode

wurden die beiden Epithelien mechanisch sauber voneinander getrennt, wobei gleichzeitig die gemeinsame Trennschicht, die azelluläre Mesogloia, entfernt wurde. Von Achermann (1980) ist bekannt, dass isoliertes Ektoderm von Podocoryne in der Lage ist, das fehlende Entoderm zu ersetzen und Stolonen bzw. Polypen zu regenerieren, dass aber das Entoderm diese Leistung, im reziproken Sinn, nicht zu erbringen imstande ist.

Die Ektoderm-Ektoderm-Transplantationen und die Ektoderm-Entoderm-Rekombinationen wurden nur in der heteroklonalen Kombination durchgeführt.

3.3.1. Ektoderm-Ektoderm-Chimären

Es wurden total 8 Chimären hergestellt, bei denen auf einer Glaskapillare je 2 Ektodermringe, die von Polypen verschiedener Klone isoliert worden waren, zur Verwachsung gebracht wurden (Abb. 15a). Obwohl die Verwachsung innerhalb weniger Stunden erfolgte, sodass die vereinigten Stücke von der als Stütze dienenden Kapillare geschoben werden konnten, blieb die Verwachsungsnaht noch bis zum 7.Tag mehr oder weniger deutlich sichtbar (Abb. 15b). In 2 Fällen trennten sich die beiden Epithelien nach 7 bzw. 15 Tagen wieder, ohne Reaktionen gezeigt zu haben, die auf einer Unverträglichkeit beruhend zu interpretieren gewesen wären. Von den restlichen 6 Transplantaten sprosssen bei 4, innerhalb der 4-wöchigen Beobachtungszeit, Stolonen und bei allen konnte eine Regeneration von Polypen festgestellt werden (Tab. 9), die teils direkt dem Transplantat, teils den Stolonen entprangen (Abb. 15d,e). In 2 Fällen wandelten sich die Autozoide auf den Transplantaten in Gonozoiden um (Abb. 15e), wobei allerdings die Medusenknospen nie fertig ausdifferenziert wurden.

Die Versuchsreihe hat die von Achermann (1980) gemachte

Beobachtung, wonach isoliertes Ektoderm von Podocoryne-Polypen in der Lage ist, sich auf dem Weg der Entoderm-Regeneration zu einer normalen Kolonie zu entwickeln, bestätigt. Die Kombination "fremder" ektodermaler Epithelien hat zu keinen Unverträglichkeiten geführt, ja die beiden Komponenten waren in der Lage, gemeinsam das fehlende Entoderm zu ersetzen.

3.3.2. Ektoderm-Entoderm-Chimären

Diese zweite Versuchsreihe (Kap. 2.2.3.) wurde wiederum nur mit interklonalen Kombinationen ausgeführt.

Das Ektoderm hatte bei allen 24 Kombinationen schon am 1. postoperativen Tag das Entoderm umschlossen. Nur 2 Rekombinate zeigten keine weiteren Entwicklungsleistungen. Alle übrigen verankerten sich mit Hilfe des ausgeschiedenen Periderms an der Unterlage. 13 mal konnte die Bildung von Stolonen (Abb. 16a) und in 2 Fällen die Entwicklung von Polypen (Autozoid) (Abb. 16b) aus diesen Stolonen festgestellt werden (Tab. 9).

Auch in dieser Serie kann aufgrund der Resultate mit Sicherheit ausgesagt werden, dass die interklonale Gewebeunverträglichkeit beim Polypen (Kap. 3.1.2.) nicht auf Wechselwirkungen zwischen Ektoderm und Entoderm zurückzuführen sind.

4.0.0. DISKUSSION

Die metagenetische, zu den Hydrozoa gehörende Art Podocoryne carnea M. Sars verhält sich bezüglich der Verträglichkeit bzw. Unverträglichkeit ihrer Stolonen wie die ihr nahestehende Hydractinia echinata Flemm., das heisst im intraklonalen Verwachsungstest anastomosieren die flächenhaft auswuchernden Stolonen, während sie in der analogen interklonalen Gegenüberstellung niemals Anastomosen bilden. Die auswachsende Stolonenspitze erkennt somit den ihr zufällig im Wege stehenden Stolonenabschnitt entweder als "fremd" oder als "nicht fremd" (Jauch 1977).

Obwohl in der vorliegenden Arbeit keine umfangreichen Kreuzungsversuche gemacht wurden, scheint diese Klonspezifität der Erkennungsmechanismen und der daraus folgenden Reaktionen wie bei Hydractinia (Hauenschild 1956), genetisch begründet zu sein. Die Ergebnisse des Stolonentests (Kap. 3.1.1.), in dem die F₁-Generation der beiden verwendeten Klone auf ihre Verträglichkeit mit den elterlichen Klonen geprüft wurde, stützen diese Vermutung.

An dieser Stelle sei auch hervorgehoben, dass es sich um ein stabiles Phänomen handeln muss, da die Unverträglichkeit zwischen den beiden verwendeten Klonen (2♂ und 6♀) während der ganzen, 2 Jahre dauernden Beobachtungsperiode, in unveränderter Form erhalten blieb.

Die eingangs aufgeworfene Frage, ob die vom Polypen ausgehende blastogenetische Medusendifferenzierung (Bölsterli 1977) unter Umständen so weit geht, dass sich innerhalb ein und desselben Klons zwischen den Zellen resp. Geweben der beiden so verschiedenen Erscheinungsformen eine Unverträglichkeit ausbilden könnte, haben sowohl die Transplantations-

(Kap. 3.1.o.) als auch die Reaggregationsversuche (Kap. 3.2.o.) im negativen Sinne entschieden, denn Polypen (Autozoide), welche intraklonal anstelle des amputierten Medusenmanubriums transplantiert worden waren, wurden nicht abgestossen, sondern vom Wirt in undramatischer Weise resorbiert. Dieser Vorgang hatte, sofern es sich um eine intraklonale Kombination handelte, auch für den Wirt keine negativen Auswirkungen. Ob dieses resorbierte Polypenmaterial über den Weg eines Transdifferenzierungsprozesses (Schmid 1980, Schmid et al 1980, 1982) für das regenerierende Manubrium weiterverwertet wird, muss vorläufig dahingestellt bleiben. Dass die Resorption nicht Ausdruck einer echten Unverträglichkeit ist, wird u.a. dadurch belegt, dass das gleiche, interklonal ausgeführte Austauschexperiment zum Tod des Wirtes, also der Meduse, führte. In diesem Fall liegt ein "killing effect" vor, dem die Wirtsmeduse zum Opfer fällt. Die Frage, auf welchem Weg die Zellen des fremden Polypen-Implantats ihre zerstörerische Wirkung geltend machen, muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben (siehe unten).

Die interklonalen Austausche von Manubrien haben gezeigt (Kap. 3.1.3.), dass die Medusengeneration im Gegensatz zu Stolonen und Polypen im Transplantationsexperiment gegenüber klonfremden Implantaten (Manubrien) nicht reagiert. Dies bedeutet, dass entweder das fremde Implantat nicht als solches erkannt wird oder dass der Wirt ausserstande ist, eine entsprechende Reaktion auszulösen.

Diese paradoxe Situation widerspricht der Erwartung, würde man doch annehmen, dass die auf einer höheren Differenzierungs-, bzw. Evolutionsstufe stehende Meduse auch über feiner ansprechende Erkennungsmechanismen und wirksamere Reaktionsmöglichkeiten verfügen müsste.

Für diese an sich widersinnige Situation können auf dem derzeitigen, noch rudimentären Stand der Kenntnisse, folgende

Erklärungsmöglichkeiten in Betracht gezogen werden:

1. Im Laufe des Differenzierungsprozesses der Meduse, durch den ein ganz neues Inventar von medusentypischen Zellen entsteht, teils durch Transdifferenzierung, teils auf Kosten von Reservezellen (I-Zellen) (Bölsterli 1977), haben die Zellen die für die Erkennung von "fremd" bzw. "nicht fremd" zuständigen Rezeptoren eingebüsst, sodass die Gewebe, im Gegensatz zu jenen der Stolonen und Polypen, ausserstande sind, klonfremde Elemente als solche zu erkennen.

2. Wie weiter unten dargelegt wird, könnte als Trägerin der Rezeptoren, die für ein Erkennen von "fremd" oder "nicht fremd" verantwortlich sind, die extrazelluläre Matrix in Frage kommen. Von neuronalen Retinazellen bei Hühnchenembryonen (Hausman & Moscona 1976, Rutishauser et al 1976) oder von regenerierenden Dictyostelium discoideum (Müller & Gerisch 1978, Steinemann & Parish 1980) sind solche Bindungsstellen bekannt.

Nimmt man nun an, dass die Anzahl verschiedener solcher Bindungsstellen für beide Generationen festgelegt sei, und dass diese mit fortschreitender Höherentwicklung des Organismus und des zellulären Aufbaus zunimmt, müsste die somatisch unsterbliche Polypengeneration (Brien 1953) weniger verschiedene solcher Rezeptoren aufweisen, als die evolutiv höherstehende Meduse (Tardent 1978). Wenn man weiter annimmt, dass für das Erkennen und eine Kompatibilität innerhalb einer Art eine bestimmte Anzahl verschiedener Bindungsstellen erforderlich wäre, kann abgeleitet werden, dass die Wahrscheinlichkeit für das Erreichen dieser Anzahl auf dem Niveau der Stolonen und Polypen viel geringer sein müsste, als auf dem Niveau der Medusen. Es müssten allerdings sowohl unter den Stolonen und Polypen, im interklonalen Austausch, Fälle auftreten, wo diese verträglich sind, als auch umgekehrt unter den Medusen Klone existieren, die nach wechselseitiger Trans-

plantation Inkompatibilitätsreaktionen zeigen.

Diese Forderungen können durch folgende Tatsachen bestätigt werden: Von 14 Wildfängen, die auf Stolonenbasis in 26 verschiedenen Kombinationen gegeneinander ausgetestet wurden, waren keine kompatibel, aber die 5 Kreuzungskclone (Kap. 3.1.1.) zeigen mit ihren Elterklonen teilweise eine gute Verträglichkeit. 25 Kclone wurden in 58 verschiedenen Kombinationen auf Medusen-niveau durch Manubrienaustausch auf Verträglichkeit überprüft. Dabei konnte zwischen 2 Klonen eine deutliche Unverträglichkeit festgestellt werden (Bührer 1975).

3. Die Medusenzellen besitzen wohl wirksame Rezeptoren, aber es gebricht dieser Organisationsstufe an klontypischen Komponenten, aufgrund derer die Rezeptoren ein Transplantat als "fremd" oder "nicht fremd" identifizieren könnten. Dies bedeutet, dass Stolonen und Polypen über derartige Erkennungsmerkmale verfügen müssten. Als Kandidat hierfür muss die extrazelluläre Matrix in Betracht gezogen werden. Diese ist bei Stolonen und Polypen einerseits durch das cuticuläre Periderm, eine Ausscheidung des ektodermalen Epithels, andererseits durch die azelluläre, Ektoderm-Entoderm trennende Mesogloä (Chapman 1966, 1974; Hausmann 1973), vertreten. Das Periderm bildet im Fall der Stolonen eine chitinöse Schutzhülle, im Fall der "nackten" Polypen einen mucösen, äusseren Ueberzug. Eine vergleichbare cuticuläre Bildung fehlt der Meduse, die jedoch über eine voluminöse Mesogloä verfügt (Tardent 1978). Verschiedene Tatsachen sprechen dafür, dass das Periderm Träger klonspezifischer Signale ist. So hat Jauch (1977) u. a. zeigen können, dass eine Stolonen spitze von Podocoryne ein anderes Stolonenstück als kloneigen bzw. klonfremd erkennt, sobald sie Kontakt mit dem Periderm des Gegenübers erstellt hat, jedoch bevor irgendwelche direkten Zellkontakte hergestellt wurden. EM-Untersuchungen (Jauch 1977) bestätigen, dass das lamellär aufgebaute Periderm der Stolonen nicht von zellulären Fortsätzen (Microvilli) durchbrochen wird. Die Hypothese wird weiter durch die in der vor-

liegenden Arbeit gemachten Feststellungen gestützt, wonach Zellen sowohl von Stolonen als auch von Polypen, wenn in Mischaggregaten miteinander konfrontiert, untereinander verträglich sind. Durch die vorangegangene Dissoziation gingen sowohl das Periderm als auch die Mesogläa als mögliche Träger der Erkennungsmerkmale verloren. Nach der Reaggregation würden beide wohl neu aufgebaut, aber unter Mitwirkung von Zellen beider Klone. Erwartungsgemäss muss dabei ein molekulares Mosaik entstehen, welches von den Zellen beider beteiligter Klone als "eigen" gewertet würde. Die Mesogläa kommt diesbezüglich weniger in Frage, weil die Meduse ebenfalls über eine solche verfügt. Allerdings könnte die medusoide Mesogläa molekular weniger differenziert sein als jene der Stolonen und Polypen.

Auf dem derzeitigen Stand der Untersuchungen wäre es verfrüht, der einen oder anderen der aufgeführten Hypothesen einen eindeutigen Vorzug zu geben.

Ein weiterer Aspekt, den es in diesem Zusammenhang zu berücksichtigen gilt, betrifft die unterschiedliche ökologische Verhaltensweise von Stolonen und Polypen einerseits und der Medusen andererseits. Bei den ersteren ist, ihrer benthischen und sessilen Lebensweise wegen, die Wahrscheinlichkeit wesentlich grösser, dass genetisch verschiedene Individuen bzw. Klone untereinander in Berührung kommen bzw. miteinander Kontakt aufnehmen, als im Fall der pelagischen Medusen. Die Unverträglichkeitsreaktionen von Stolonen und Polypen dürfen unseres Erachtens insofern als einen Selektionsvorteil darstellend betrachtet werden, als sie Fusionen zwischen genotypisch verschiedenen Individuen verhindern. Falls dies tatsächlich zutrifft, ist anzunehmen, dass die sich frei bewegenden Medusen keinem entsprechenden Selektionsdruck ausgesetzt waren.

Während sich die Unverträglichkeitsreaktionen auf dem

Niveau der Stolonen auf ein Nichteingehen von Anastomosen beschränkten, wobei allerdings in den Berührungszonen der Stolonen zweier Klone ein unkontrolliertes Stolonenwachstum auftrat, was zur Bildung von eigentlichen Kampfzonen (Abb. 4a) führte, haben die Reaktionen nach Transplantation von Polypen weit schwerwiegendere Folgen. Das Implantat wurde nicht nur vom Wirt abgestossen, sondern die Parabiose zog den Zerfall der beiden Kontrahenten nach sich (Abb. 6). Dieser "killing effect" dehnte sich sogar häufig auf weitere Wirtspolypen der Wirtskolonie aus. Müller (1964) und Théodor (1966) konnten an ihren Versuchsobjekten (Hydractinia bzw. Gorgonaria) ebenfalls Unverträglichkeitsreaktionen feststellen, die zu ausgeprägten Depressionerscheinungen und schlussendlich zum Zerfall der Parabiosepartner führten. Die Vermutung liegt nahe, dass ein gegenseitiger Austausch von Wanderzellen (I-Zellen und Nematocyten), wie sie von Burnett (1960), Mercolli (1977), Campbell & Marcum (1980) und Stidwill (1981) im Fall parabiologisch vereinigter Hydra-Arten nachgewiesen wurden, auch hier mit im Spiel steht.

Die Vermutung geht dahin, dass die zu ausgedehnten, interzellulären Ortsveränderungen befähigten I-Zellen (Tardent & Morgenthaler 1966; Stidwill 1981), die einerseits potentielle Gonocyten sind, sich als Reservezellen andererseits aber auch in somatische Elemente (Nematocyten, Nerven- und Sinneszellen) entwickeln können (Campbell & David 1974; David & Gierer 1974; Bode & Smith 1977), im undifferenzierten Zustand nicht befähigt sind, "fremd" von "nicht fremd" zu unterscheiden und/oder nicht Träger von art- bzw. klonspezifischen Erkennungsmerkmalen sind. Diese Eigenschaften würden sich erst infolge ihrer Differenzierung zu neuronalen Elementen und Nematocyten ausbilden, sodass es erst nach Einwanderung in die "fremde" Umgebung zu Unverträglichkeitsreaktionen käme. Diese würden die beschriebenen Depressionerscheinungen

deshalb nach sich ziehen, weil eine Entmischung der art- bzw. klonfremden Zellen nicht mehr möglich ist. Verglichen mit den Reaggregationsversuchen ist die Situation insofern verschieden, als "fremde" Zellen in einen, bezüglich seiner zellulären Architektur, intakten Wirt eingewandert sind.

Das Problem des einseitigen oder gegenseitigen Tötungseffekts muss nun auf biochemischer Ebene weiterverfolgt werden.

Als eines der Nebenergebnisse der vorliegenden Untersuchungen steht die Feststellung, wonach der geschlechtliche Funktionszustand von Podocoryne carnea, im Gegensatz zu dem anderer Hydrozoa (Tardent 1968, 1978), stabil ist. Weder in Transplantationsexperimenten, noch in den Reaggregationsversuchen fand eine Vermännlichung der ursprünglich weiblichen Komponenten statt. Dafür zeugen die zahlreichen Zwittermedusen, welche als Folge der Kombinationen von Zellen und Geweben beider Klone entstanden.

In einem einzigen Fall (T M₆-M₂, Abb. 7) ging eine zuvor hermaphroditische Meduse zum männlichen Funktionszustand über. Ob es sich hier um eine echte Umdetermination des weiblichen Teils gehandelt hat, so wie sie Müller (1964, 1967) bei Hydractinia feststellen konnte und wie sie bei Hydra (Tardent 1968) häufig vorkommt, kann aufgrund dieses Einzelfalls nicht entschieden werden. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass dieser Geschlechtswechsel dadurch zustande kam, dass sich der im transplantierten Manubrium vorhandene Oocyten-Bestand erschöpfte und durch eingewanderte Spermatogonien ersetzt wurde.

Die durchgeführten Untersuchungen haben auch neue Erkenntnisse zur Frage der morphogenetischen Leistungsfähigkeit der 3 Realisationsstufen, Stolon, Polyp und Meduse geliefert: Die Zellen aller 3 Erscheinungsformen sind in der

Lage, aus chaotischen Situationen heraus, wie sie nach Reggregation von dissoziierten Zellverbänden vorliegen, Regenerationsleistungen zu erbringen. Im Fall der stolonialen und polypoiden Zellen wurden stets zuerst Stolonen ausgebildet, d.h. dass auch Polypenzellen zunächst zu dieser wohl primitivsten Realisationsstufe zurückkehren, aus der dann erst in einer zweiten Phase Polypen und später auch Medusen hervorgehen können. Damit befolgen auch diese sekundären, morphogenetischen Prozesse die normale ontogenetische Sequenz. Die Medusenzellen bilden jedoch eine Ausnahme, indem sie nicht in der Lage sind, die Rekonstruktion der normalen Medusenform auf regenerativem Weg zu vollziehen. Die Aggregate sind aber immerhin noch fähig, medusoide Organe wie Tentakel und funktionelle Manubrien zu bilden. Auch die Gametogenese schien durch den Dissoziationsprozess nicht beeinträchtigt, entliessen doch interklonale Zellgemische befruchtungsfähige Eier, die anschliessend "selbst" besamt wurden.

Ergänzend müssen hier die Arbeiten von Frey (1968) und Schmid (1972) erwähnt werden: Medusenknospen können, bis zum Entwicklungsstadium 8 (Frey 1968), durch Dissoziation und Reggregation zur Umkehr der eingeschlagenen Entwicklung gezwungen werden. Von Zellaggregaten ausdifferenzierter Medusen konnte in seltenen Fällen die Ausbildung von stolonialen Strukturen festgestellt werden, ohne dass sich aber je eine Polypenkolonie gebildet hat. Diese Befunde könnten andeuten, dass sich die Meduse während ihrer blastogenetischen Entwicklung so weit von den Realisationsstufen Stolon und Polyp entfernt, dass eine Rückkehr (Transdifferenzierung) und damit auch wieder eine Neuentwicklung in der ontogenetisch richtigen Reihenfolge nur unter günstigen äusseren Bedingungen möglich ist.

Die Mischaggregate von Polypen und Medusen zeigen deutlich, dass eine Kollaboration zwischen Zellen der zwei be-

teiligten Partner nicht realisiert werden kann, dass sie sich aber gegenseitig nicht als "fremd" erkennen und deshalb auch nicht voneinander segregieren. Offenbar besitzen die Medusenzellen ein schnelleres Regenerationsvermögen als die Polypenzellen, wobei letzere allerdings ausdauernder zu sein scheinen, lösen doch polypentypische Ausbildungen die medusoiden ab, bevor die Aggregate der allgemeinen Desintegration anheimfallen.

5.0.0. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Mittels eines männlichen und eines weiblichen Klons der gonochoristischen Hydrozoenart Podocoryne carnea M.Sars (Cnidaria Hydrozoa) wurden Verträglichkeits-resp. Unverträglichkeitsreaktionen sowie Regenerationsleistungen an intra- bzw. interklonalen und an homo- bzw. heterotypischen Transplantationschimären und Zellaggregaten der drei Erscheinungsformen (Stolon, Polyp, Meduse) untersucht.
2. Intakte Gewebe von Stolonen und Polypen zeigten, wenn sie interklonal in Kontakt gebracht wurden, klare Unverträglichkeitsreaktionen, die im Fall von Polypentransplantaten zum Tod des Implantates und zu starken Depressionserscheinungen des Wirts führten, während bei Medusen keine Anzeichen einer interklonalen Inkompatibilität festgestellt werden konnten.
3. An homotypischen, interklonalen Zellaggregaten der drei Erscheinungsformen blieben jegliche Unverträglichkeitsreaktionen aus. Während die Zellen von Stolonen und Polypen in der mosaikartigen Zusammensetzung der Reihe nach Stolonen, Polypen und Medusen regenerierten, waren die Medusen- Zell- Aggregate nur zur Regeneration medusoider Strukturen und zur Gametogenese befähigt.
4. Sowohl aus interklonalen Medusen- Chimären, als auch aus Zellaggregaten aller drei Erscheinungsformen, gingen hermaphroditische Medusen hervor, die nach "Selbstbefruchtung" lebensfähige Planularlarven zeugten.
5. Während im heterotypischen, intraklonalen Gewebeaustausch zwischen Polyp und Meduse keine Unverträglichkeitsreaktionen eintraten, was für ein Nicht- Erkennen des fremden

Gewebes zeugt, führten dieselben interklonal ausgeführten Transplantationen zum Tod der Chimären. Heterotypische Zellaggregate zwischen Polypen und Medusen waren kompatibel, waren aber ausserstande, morphogenetisch zusammenzuarbeiten.

6. Interklonale Polypen-Chimären zwischen isolierten Keimblättern (Ekto-Ekto, Ento-Ento) waren kompatibel und regenerierten in der postulierten, evolutiven Reihenfolge Stolonen, Polypen und Medusen.
7. Die Ergebnisse dieser Arbeit werden mit Resultaten ähnlicher Versuche verglichen und diskutiert.

6.o.o. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- Achermann, J.: Die Medusenentwicklung von Podocoryne carnea M.Sars (Hydrozoa) unter der Wirkung von Actinomycin D und Puromycin. Zool. Jb. Physiol., 82, 441-464 (1978).
- The fate and regeneration capacity of isolated ecto- and endoderm in polyps of Podocoryne carnea M.Sars (Hydrozoa, Athecata). In: Developmental and Cellular Biology of Coelenterates (eds. P. & R. Tardent) Elsevier/North-Holland Biomed.Press, 273-279 (1980).
- Artmann, G.: Unverträglichkeitsreaktionen während und nach der Parabiose zwischen Hydra attenuata und Hydra fusca. Diplomarbeit, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1969).
- Avset, K.: The development of the medusa Podocoryne carnea M.Sars. Nytt. Mag. Zoo., 10, 49-56 (1961).
- Berrill, N.J.: Growth and form in gymnoblastic hydroids. VI. Polymorphism within the Hydractiniidae. J. Morph., 92, 241-271 (1953).
- Bibb, C. & Campbell, R.D.: Cell affinity determining hetero-specific graft intolerance in Hydra. Tissue Cell, 5(2), 199-208 (1973).
- Bode, H. & Smith, R.G.: Regulation of interstitial cell differentiation in Hydra attenuata. II. Correlation of the axial position of the interstitial cell with nematocyte differentiation. W. Roux's Arch., 181(3), 203-213 (1977).
- Bölsterli, U.: An electron microscopic study of the early developmental stages, myogenesis, oogenesis and cnidogenesis in the anthomedusa Podocoryne carnea M.Sars. J. Morph., 154, 259-289 (1977).
- Brändle, E.: Bedeutung der kolonialen Komponenten für die Bildung und Differenzierung der Medusen von Podocoryne carnea M.Sars. W. Roux's Arch., 166, 254-286 (1971).
- Bravermann, M.H.: Studies on hydroid differentiation. I. Podocoryne carnea, culture methods and carbon dioxide induced sexuality. Exp. Cell Res., 27, 301-306 (1962).
- Brien, P.: La pérennité somatique. Biol. Rev., 28, 308-349 (1953).

- Brien, P. & Reniers-Decoen, M.: La croissance, la blastogénèse, l'ovogénèse chez Hydra fusca (Pall.). Bull. Biol. France Belg., 83, 295-386 (1949).
- Brunnert, A.: Metaplasia or transdifferentiation in striated muscle of Podocoryne carnea M.Sars (Coelenterata, Hydrozoa). Dissertation, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1979).
- Bührer, M.: Transplantationsversuche zur Frage der Verträglichkeit zwischen Polypen- und Medusengeweben mariner Hydroiden (Hydrozoa, Cnidaria). Diplomarbeit, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1975).
- & Tardent, P.: Compatibilities and incompatibilities in Podocoryne carnea (Anthomedusae). In: Developmental and Cellular Biology of Coelenterates (eds. P. & R. Tardent) Elsevier/North-Holland Biomed. Press, 477-480 (1980).
- Burnett, A.L.: The nematocysts of Hydra. II. The maturation of nematocysts in Hydra. Ann. Soc. Roy. Zool. Belg., 90, 269-280 (1960).
- The growth process in Hydra. J. Exp. Zool., 146(1), 21-83 (1961).
- Campbell, R.D.: & David, C.N.: Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. II. Interstitial cells. J. Cell Sci., 16, 349-358 (1974).
- & Marcum, B.A.: Nematocyte migration in Hydra: Evidence for contact guidance in vivo. J. Cell Sci., 41, 33-51 (1980).
- Chapman, G.: The structure and function of the mesoglea. In: The Cnidaria and their Evolution. Symp. Zool. Soc. London, 16, 147-168 (1966).
- The skeletal system. In: Coelenterate Biology (eds. L. Muscatine & H.M. Lenhoff) Acad. Press, New York, 93-128 (1974).
- Crowell, S.: Individual specificity in the fusion of hydroid stolons and the relationship between stolon growth and colony growth. Anat. Rec., 108, 560-561 (1950).
- David, C.N. & Gierer, A.: Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. III. Nerve and nematocyte differentiation. J. Cell Sci., 16, 359-375 (1974).
- Ess, B.: Experimente zur Stolonenverträglichkeit bei Podocoryne carnea M.Sars. Semesterarbeit, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1970).

- Frey, J.: Die Entwicklungsleistungen der Medusenknospen von Podocoryne carnea M.Sars nach Isolation und Dissoziation. W. Roux's Arch., 160, 428-464 (1968).
- Hauenschild, C.: Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen über Intersexualität und Gewebeverträglichkeit bei Hydractinia echinata Flemm. (Hydrozoa, Bougainvill.). W. Roux's Arch., 147, 1-41 (1954).
- Ueber die Vererbung einer Gewebeverträglichkeits-Eigenschaft bei dem Hydroidpolypen Hydractinia echinata. Z. Naturforschg., 11b, 132-138 (1956).
- Hausman, R.E.: The mesoglea. In: Biology of Hydra (ed. A.L. Burnett) Acad. Press, New York, 394-453 (1973).
- & Moscona, A.A.: Isolation of retina-specific cell-aggregating factor from membranes of embryonic neural retina tissue. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73(10), 3594-3598 (1976).
- Humphreys, T.: Chemical dissolution and in vitro reconstruction of sponge cell adhesion. I. Isolation and functional demonstration of the components involved. Dev. Biol., 8, 27-47 (1963).
- Ivker, I.B.: A hierarchy of histo-incompatibility in Hydractinia echinata. Biol. Bull., 143, 162-174 (1972).
- Jauch, U.: Ultrastructurelle Untersuchungen des Stolonensystems von Podocoryne carnea M.Sars (Cnidaria, Athecata). Diplomarbeit, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1977).
- Kolenkine, X.: Caractéristiques antigéniques et histocompatibilité chez trois espèces d'Hydres d'eau douce: Pelmatohydra oligactis, Hydra attenuata et Hydra vulgaris. C. R. Séanc. Acad. Paris, 265, 473-476 (1967).
- Kühn, A.: Die Entwicklung der Geschlechtsindividuen der Hydromedusen. Studien zur Ontogenese und Phylogenese der Hydroiden II. Zool. Jb. Abt. Anat., 30, 43-175 (1910).
- Mercolli, C.: Zellwanderungen in xenoplastischen Chimären von Hydra fusca L. und Hydra attenuata Pall. Diplomarbeit, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1977).
- Müller A.W.: Experimentelle Untersuchungen über Stockentwicklung, Poylpendifferenzierung und Sexualchimären bei Hydractinia echinata. W. Roux's Arch., 155, 181-268 (1964).

- Müller, A.W.: Differenzierungspotenzen und Geschlechtsstabilität der I-Zellen von Hydractinia echinata. W. Roux's Arch., 159, 412-432 (1967).
- Metamorphose-Induktion bei Planularlarven. I. Der bakterielle Induktor. W. Roux's Arch., 173, 107-121 (1973).
- Müller, K. & Gerisch, G.: A specific glycoprotein as the target site of adhesion blocking Fab in aggregating Dictyostelium cells. Nature, 274, 445-449 (1978).
- Noda, K.: On the incompatibility of two species of Hydra (H. magnipapillata and P. robusta) in mixed culture. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, 17(3), 440-445 (1970).
- Rutishauser, U.; Thierry, J.P.; Brackenbury, R.; Sela, B.A. & Edelman, G.M.: Mechanism of adhesion among cells from neural tissues of chick embryo. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73(2), 577-581 (1976).
- Schmid, V.: Untersuchungen über Differenzierungsvorgänge bei Medusenknospen und Medusen von Podocoryne carnea M.Sars. W. Roux's Arch., 169, 281-307 (1972).
- Structural alterations in cultivated striated muscle cells from Anthomedusae (Hydrozoa). A metaplastic event. Exp. Cell Res., 86, 193-198 (1974).
- The in vitro regeneration of a functional medusa organ from two differentiated cell types. In: Invertebrate systems in vitro (eds. E. Kurstak, K. Maramarosch & A. Dübendorfer) Elsevier/North-Holland Acad. Press, 89-101 (1980).
- & Tardent, P.: Zur Gametogenese von Podocoryne carnea M.Sars. Rev. suisse Zool., 76, 1071-1078 (1969).
- & Bänninger, R.: Manubrium regeneration in vitro. In: Developmental and Cellular Biology of Coelenterates (eds. P. & R. Tardent) Elsevier/North-Holland Biomed. Press, 353-360 (1980).
- Stidwill, R.; Bally, A.; Marcum, B. & Tardent, P.: Heat dissociation and maceration of marine Cnidaria. W. Roux's Arch., 190, 143-149 (1981).
- Wydler, M.; Alder, H. & Bally, A.: Regeneration occurring in vitro. In: Proceedings of the IX Congress of the International Society of Developmental Biologists, Basel (1982) im Druck.

- Segmüller, M.: Spawning in Podocoryne carnea. Diplomarbeit, Zool. Inst. Univ. Zürich (1981).
- Steinemann, C. & Parish, R.W.: Evidence that a developmentally regulated glycoprotein is target of adhesion-blocking Fab in reaggregating Dictyostelium. Nature, 268, 621-622 (1980).
- Stidwill, R.: Interspezifische Inkompatibilitäten zwischen Arten der Gattung Hydra (Hydrozoa, Cnidaria). Dissertation, Zool. Inst. Univ. Zürich, unpubl. (1981).
- Tardent, P.: Axiale Verteilungs-Gradienten der interstitiellen Zellen bei Hydra und Tubularia und ihre Bedeutung für die Regeneration. W. Roux's Arch., 146(5), 593-649 (1954).
- Experiments about sex determination in Hydra attenuata Pall. Dev. Biol., 17(5), 483-511 (1968).
- Experimente zum Knospungsprozess von Hydra attenuata Pall. Rev. suisse Zool., 79, 355-375 (1972).
- Coelenterata, Cnidaria. In: Morphogenese der Tiere (ed. F. Seidel) VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 71-415 (1978).
- & Morgenthaler, U.: Autoradiographische Untersuchungen zum Problem der Zellwanderungen bei Hydra attenuata Pall. Rev. suisse Zool., 73, 468-480 (1966).
- Teissier, G.: L'origine multiple de certaines colonies d'Hydractinia echinata Flemm. et ses consequences possibles. Bull. Soc. Zool. France, 54, 645-647 (1929).
- Théodor, J.: Contribution à l'étude des Gorgones. V. Les greffes chez les Gorgones: Etude d'un système de reconnaissance de tissus. Bull. Inst. océanogr. Monaco, 66, (1374), 1-8 (1966).
- Toth, S.E.: Tissue compatibility in regenerating explants from the colonial marine hydroid Hydractinia echinata. J. Cell Physiol., 69, 125-131 (1967).
- Webster, G.: Morphogenesis and pattern formation in hydroids. Biol. Rev., 46, 1-46 (1971).
- Wolpert, L.; Hornbruch, A. & Clarke, M.R.B.: Positional information and positional signalling in Hydra. Am. Zool., 14, 647-663 (1974).

7.0.0. A B B I L D U N G E N U N D T A B E L L E N

Abb. 1. Schematische Darstellung der in dieser Arbeit im Parabioseversuch(Transplantation) und in Reaggregationsexperimenten einander gegenübergestellten Komponenten von Stolonen, Polypen und Medusen(links oben ist der Generationszyklus von Podocoryne carnea dargestellt).

Abb. 2. Vorgehen bei der Amputation(a) und der Implantation (b) von medusoiden Manubrien(Kap. 2.2 3)

a) der Druck auf die Umbrella(Pfeil) drängt das Manubrium aus der Glockenhöhle, sodass es amputiert werden kann.

b) das transplantierte Manubrium(punktiert) wird am Ort des zuvor amputierten Wirts-Manubriums mittels zweier Pinzetten an die Schnittfläche gepresst. Ma, Manubrium

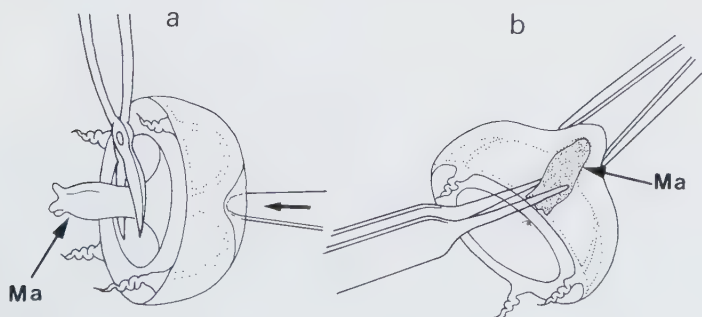
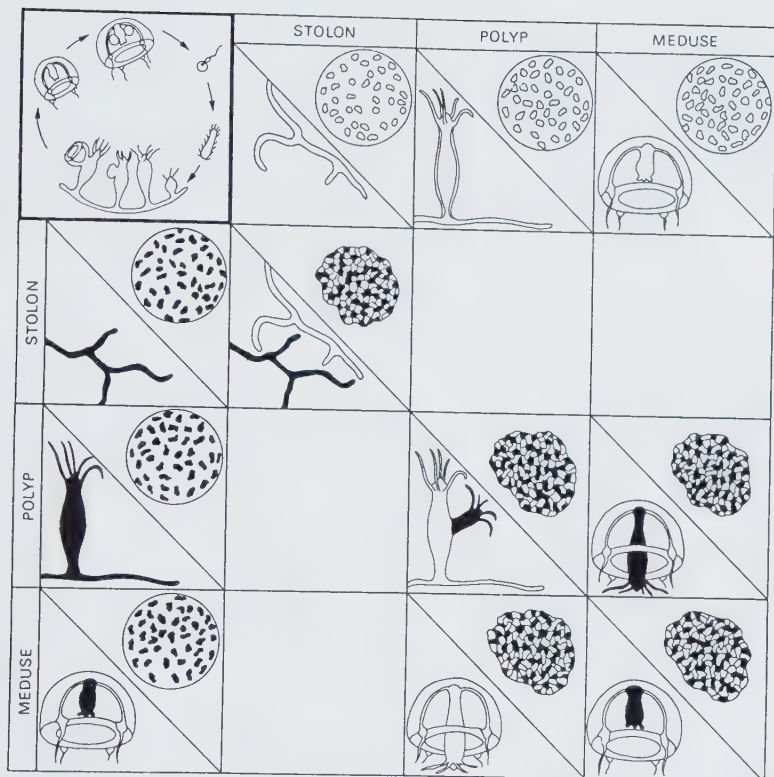


Abb. 3. Intraklonaler Verträglichkeitstest auf dem Niveau der Stolonen. Situation 42 d nach erstem Stolonenkontakt von 2 dem gleichen Klon entstammenden Tochterkolonien des Klons 6♀. Die Pfeile deuten auf einige der im Zwischenbereich entstandenen Anastomosen hin; a und b, Tochterkolonien. (Vergr. 7.5x)

Abb. 4. Interklonale Konfrontation der Stolonensysteme der Klone 2♂ und 6♀ 45d nach dem ersten interklonalen Stolonenkontakt.

a) im Zwischenbereich hat sich eine Kampfzone gebildet bestehend aus nicht anastomosierenden Stolonen(vergl. Abb. 3). (Vergr. 6x)

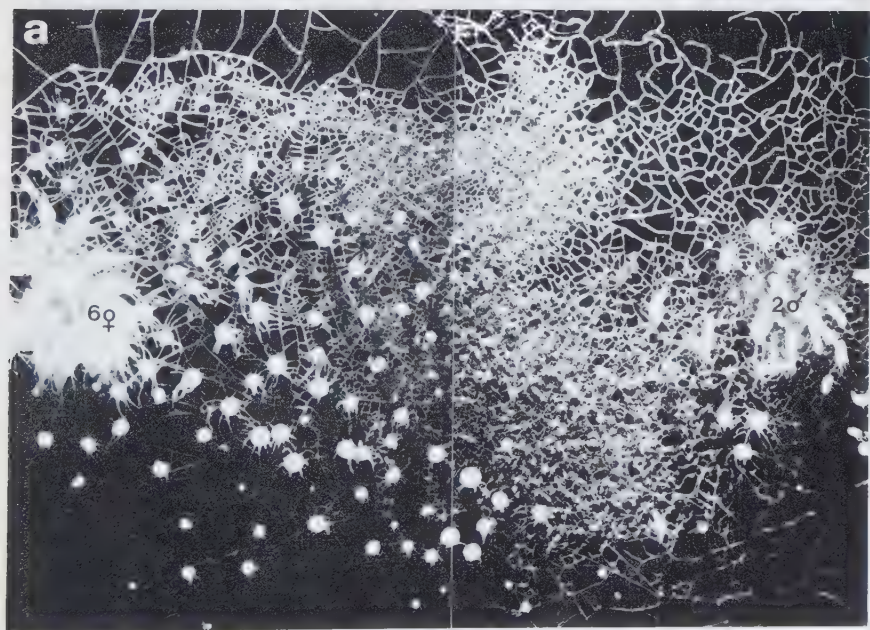
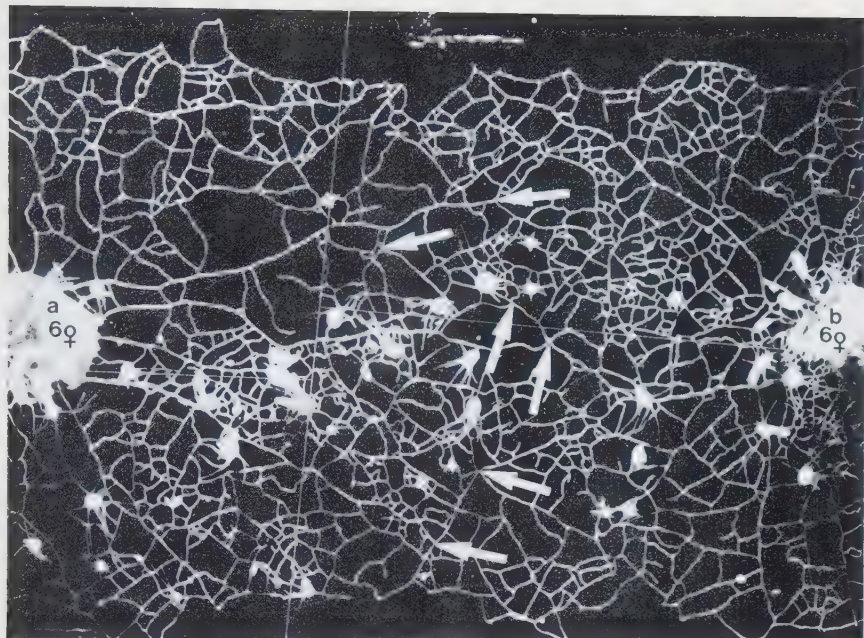


Abb. 4b. Vergrößerter Ausschnitt von 4a. Die Pfeile deuten auf heteroklonale Kontaktstellen hin, an denen sich keine Anastomosen gebildet haben d.h. wo Stolonen das klonfremde Hindernis überwachsen oder parallel zu diesen ihren Weg fortsetzen.
(Vergr. 35x)

Abb. 5. Intraklonale Transplantationsparabiose zwischen autozoiden Polypen. Situation 16 d nach Kombination des Implantats(I) mit dem Wirtsautozoid(W).
a) Parabiose innerhalb des Klons 2♂
b) Parabiose innerhalb des Klons 6♀
(Vergr. a und b, 14x)

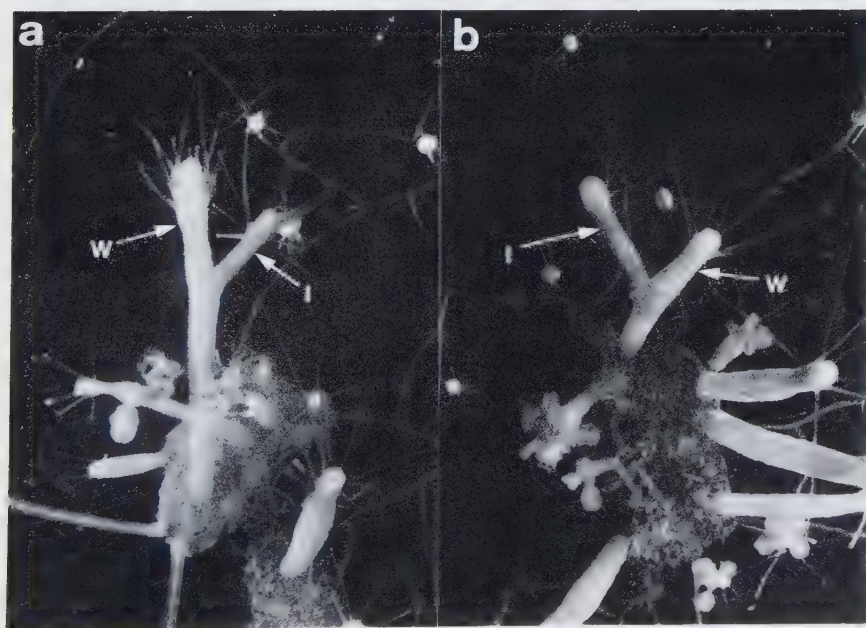


Abb. 6. Photographisches Protokoll einer interklonalen Transplantationsparabiose zwischen autozoiden Polypen($TP_2 - P_6$).

a) Situation am 1. postoperativen Tag; das implantierte Autozoid(I) ist innig mit dem Wirtsautozoid verwachsen.

b) Situation am 4. postoperativen Tag; das Implantat(I) wurde vom Wirt (W) abgestossen, beide Exparabionten zeigen Depressionerscheinungen (teilweise resorbierte Tentakel).

c) Situation am 5. postoperativen Tag; das Wirtsautozoid ist fast vollständig resorbiert(Pfeil, vergl. Abb. a und b).

d) Situation am 21. postoperativen Tag; weitere Polypen der Wirtskolonie sind vom Stolonensystem resorbiert worden.

(Vergr. a bis d: 14x)

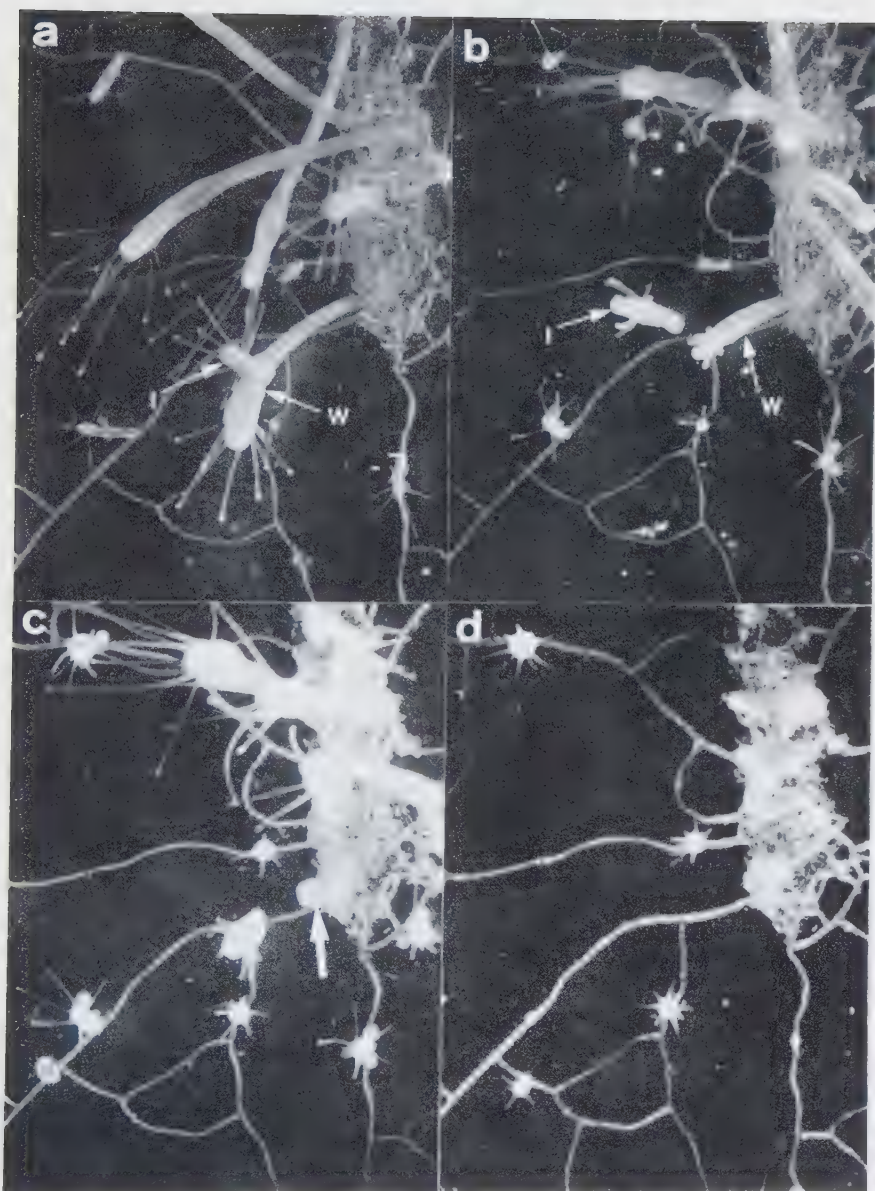


Abb. 7. Interklonale Parabiose bei Medusen. Ein weibliches Manubrium ist an einen Radiärkanal einer männlichen Meduse, deren Manubrium amputiert worden war, implantiert worden.

a) Situation 47 Tage nach Transplantation; das Implantat(I) bildet Eier(Pfeile), während die Wirtsmeduse ihr amputiertes Manubrium regenerativ ersetzt hat(R).

b) Histologischer Schnitt durch das gleiche Kombinat wie in Abb. 7a, 78 Tage nach Implantation. Das weibliche Implantat I hat seinen Geschlechtszustand geändert und zeigt wie das Regenerat R männliche Keimzellen.

c) Vergrößerter Ausschnitt von Abb. 7b; vermännlichtes Implantat mit Spermatogonien(Sg), Spermatozyten(Sc) und Spermien(Sp).

d) Vergrößerter Ausschnitt von Abb. 7b.; männliches Regenerat der Meduse mit Spermatogonien, Spermatozyten und Spermien.

(Vergr. a, 36x; b, 210x; c und d, 1600x)

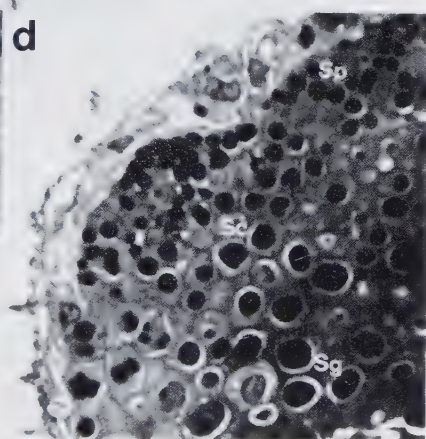
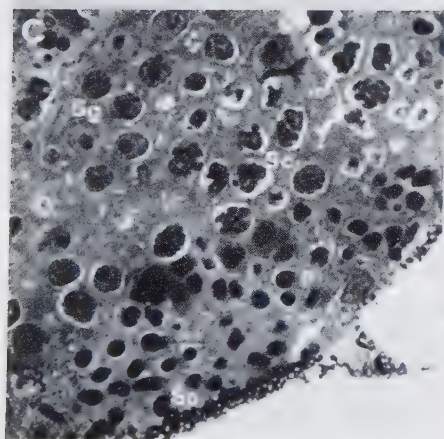
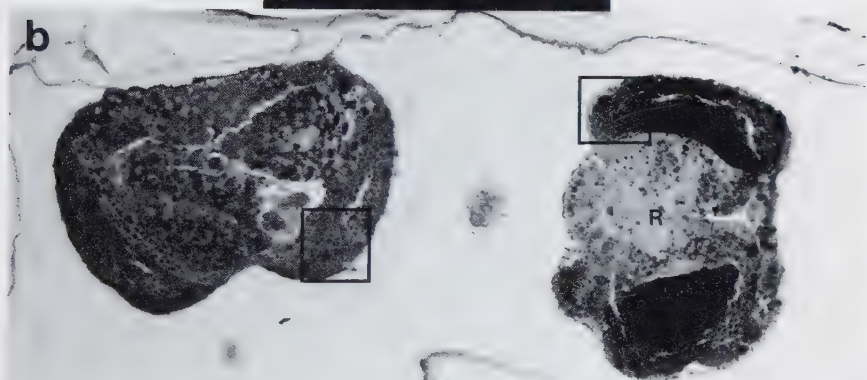
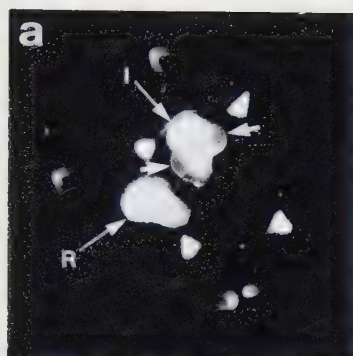


Abb. 8. Histologischer Schnitt einer interklonalen Parabiose bei Medusen ($T M_2 - M_6$) am 13. postoperativen Tag; an der Basis des männlichen Manubrium-Implantats mit Spermatogonien (Sg) und Spermien (Sp) liegen noch Reste des nur teilweise amputierten weiblichen Wirtsmanubriums mit einer Oocyte (Oc). (Vergr. 430x)

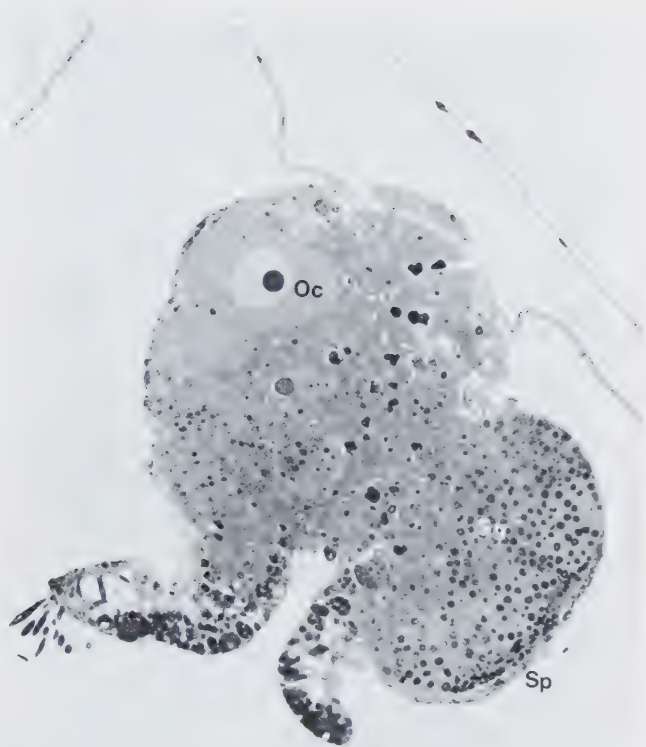


Abb. 9. Interklonale Parabiose zwischen Polyp und Meduse
(T P₂ - M₆).

a) Transplantat mit zu grossem implantiertem
Autozoid (Pfeil, vergl. Kap. 3.1.4.) am 1. post-
operativen Tag.

b) Transplantat mit kleinem Autozoid (Pfeil) am
1. postoperativen Tag, vor der Resorption des
Implantats.

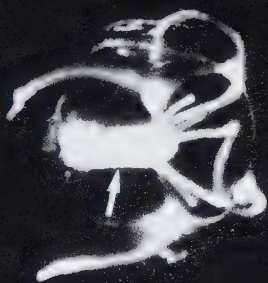
c) Gleiches Transplantat wie Abb. 9b. am 6. post-
operativen Tag. Die Medusenglocke ist bereits
stark geschrumpft (Depression).

(Vergr. a, 31x; b, 41x; c, 40x)

a



b



c



Abb. 10. Photographisches Protokoll der Entwicklungsleistungen eines interklonalen Stolonen- Mischaggregats.

a) Situation am 53. Tag nach Reaggregation, aus dem Aggregat sind Stolonen ausgewachsen, aus den Stolonen sprossen Polypen.

b) Situation 68 Tage nach Reaggregation, 2 Polypen sind direkt aus dem Aggregat ausgewachsen.

c) Situation 99 Tage nach Reaggregation,; A, Aggregat; P, Polyp; S, Stolon.

(Vergr. a und b, 25x; c, 12x)

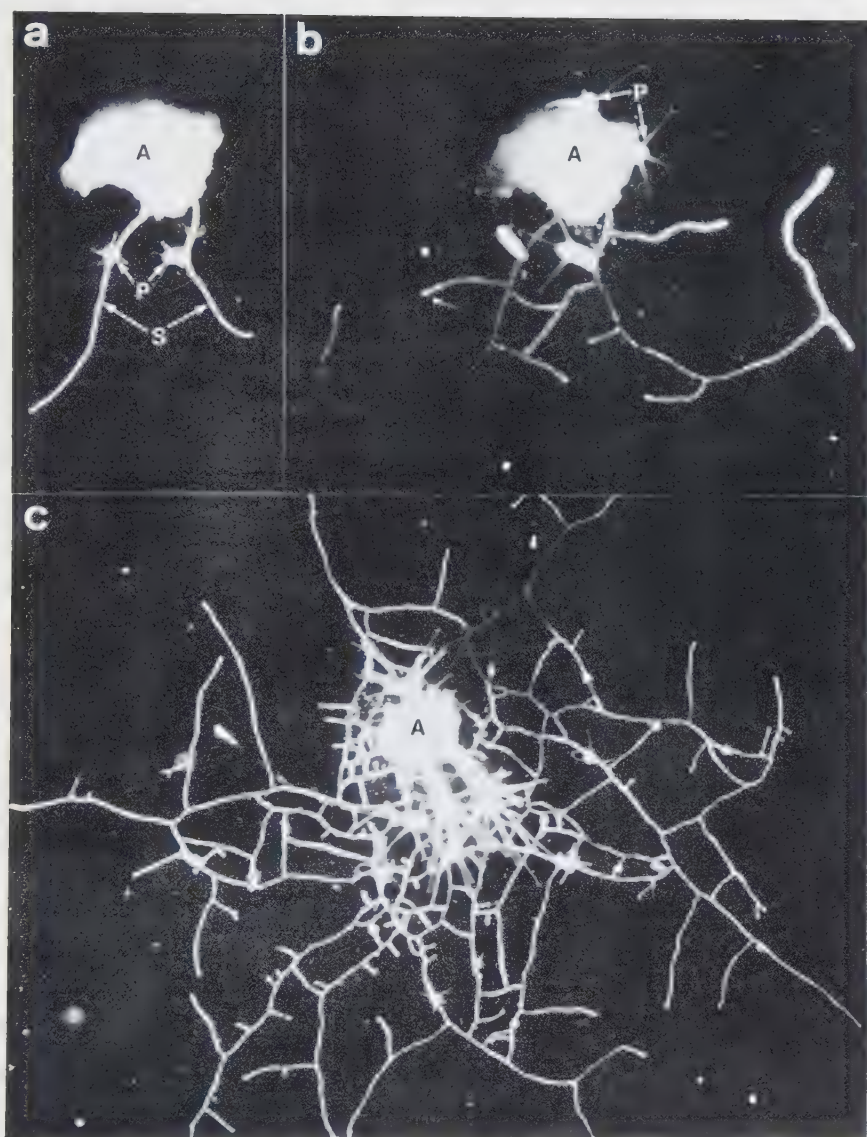


Abb. 11. Entwicklungsleistungen interklonaler Aggregate dissoziierter Autozoide, d-e: Rekonstruktion der Regeneration einer Polypenkolonie aus einem solchen Aggregat.

a) Situation am 1. postoperativen Tag, das Aggregat hat sich abgekugelt; b) Situation nach ca. 12 Tagen, die ersten Stolonen(St) sind regeneriert; c) nach dem 19. postoperativen Tag sprossen aus den Stolonen und dem Aggregat Autozoide(Az); d) Situation nach 153 Tagen, an der Kolonie bilden sich Gonozoeide (Gz), die Medusen differenzieren. e) Hermaphroditische Meduse, die von einer solchen Mosaikkolonie freigesetzt wurde.

f) Histologischer Schnitt durch ein Zwittermanubrium einer Meduse, die von einem regenerierten Polypenaggregat entlassen wurde, 3 Gonaden sind angeschnitten(Pfeile).

g) Vergrößerter Ausschnitt von f, Spermatocyten(Sc) und Oocyten(Oc) liegen nebeneinander.

Go, Gonaden; Ma, Manubrium

(Vergr. f, 250x; g, 980x)

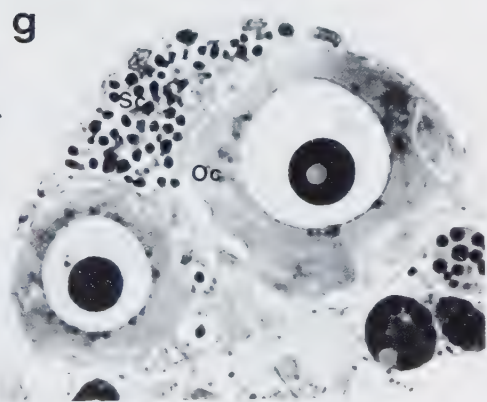
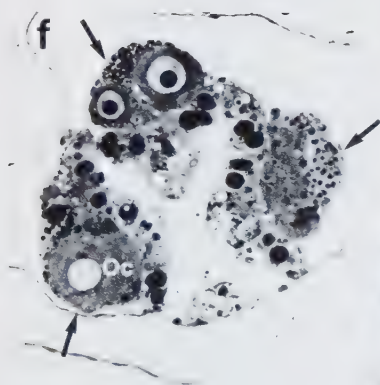
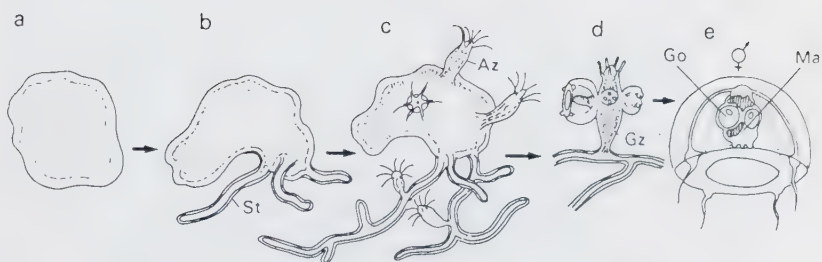


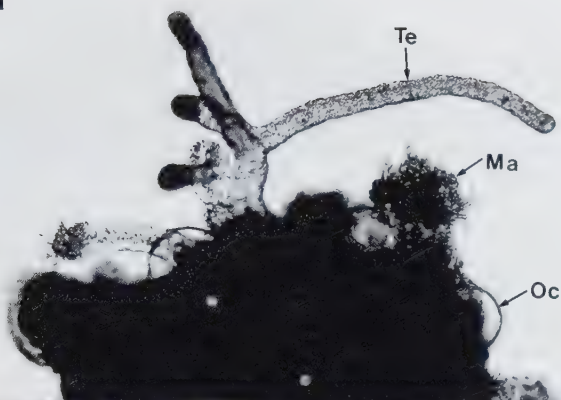
Abb. 12. Interklonale Medusenaggregate, 17 Tage nach
Reaggregation.

a) Aggregat mit Tentakeln(Te.), Manubrium(Ma)
und Oocyten(Oc).

b) regeneriertes Manubrium mit den typischen Nema-
tocyten(Ne).

(Vergr. a, 60x; b, 340x)

a



b

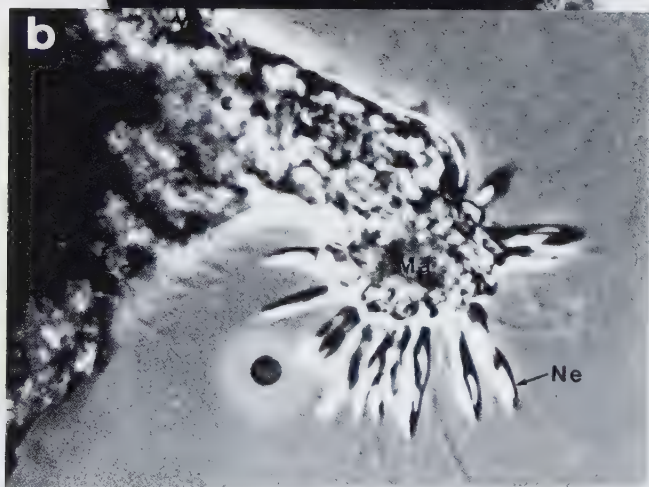


Abb. 13. Entwicklungsleistungen interklonaler Medusenaggregate.

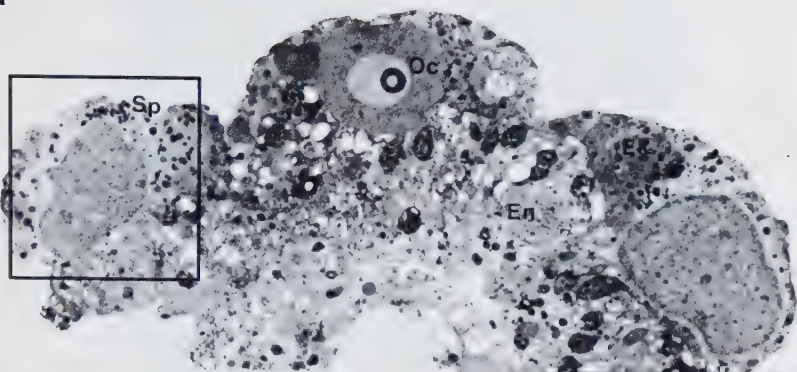
a) Histologischer Schnitt durch ein 12 Tage altes Aggregat, Ektoderm(Ek) und Entoderm(En) sind deutlich voneinander getrennt, im Ektoderm haben sich Oocyten(Oc) und Spermien(Sp) entwickelt.

b) Ausschnitt aus a mit einer angeschnittenen Oocyte und Spermien.

c) Oocyte umgeben von Flagellen(Fl) besetztem Ektoderm, 16-tägiges Aggregat.

(Vergr. a, 400x; b, 1180x; c, 280x)

a



b

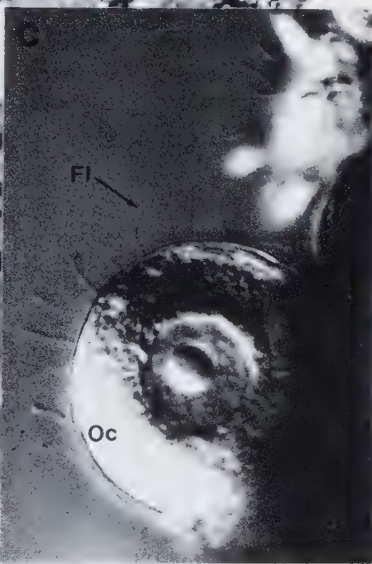
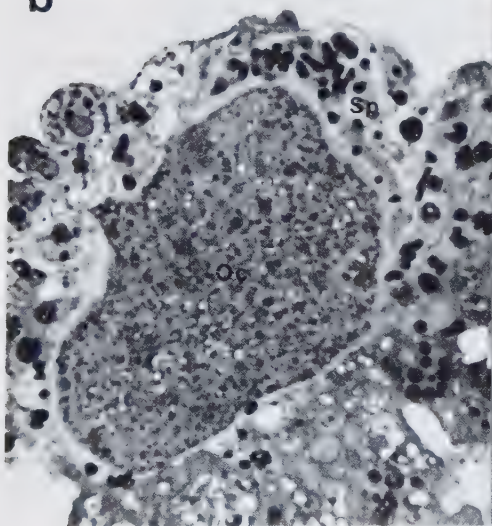


Abb. 14. Photographisches Protokoll der Entwicklungsleistungen eines interklonalen, heterotypischen Aggregates aus Polypen- und Medusenzellen.

a) Situation 8 Tage nach Reaggregation, an der Aggregatoberfläche haben sich Manubrien (Ma) gebildet.

b) Situation 12 Tage nach Reaggregation, neben den Manubrien wurden medusoide Tentakel (Te) regeneriert.

c) Nach Resorption der medusoiden Aussenstrukturen hat sich am 36. Tag nach Reaggregation ein winziges Autozoid (Az) gebildet.

(Vergr. a bis c, 50x)

a



b



c



Abb. 15. Entwicklungsleistungen interklonaler Ektoderm-Ektoderm-Chimären, a-d: Rekonstruktion der Regeneration aus einer solchen Kombination
a) Zusammenfügen zweier Ektodermringe auf einer Glaskapillare; b) Situation am 1. postoperativen Tag, die Verwachsungsnaht (Pfeil) zwischen den beiden Parabiosepartnern ist deutlich zu sehen; c) Situation nach ca. 5 Tagen, das Ektoderm hat ins Innere des Aggregates ein Entoderm (punktiert) regeneriert; d) Situation nach ca. 20 Tagen, das Transplantat hat Stolonen (St) und Autozoide (Az) regeneriert.

e) Das auf einem Transplantat (Tr) entstandene Autozoid hat sich am 16. postoperativen Tag zu einem Gonozoid (Gz) mit Medusenknospen (Mk) entwickelt.
(Vergr. e, 40x)

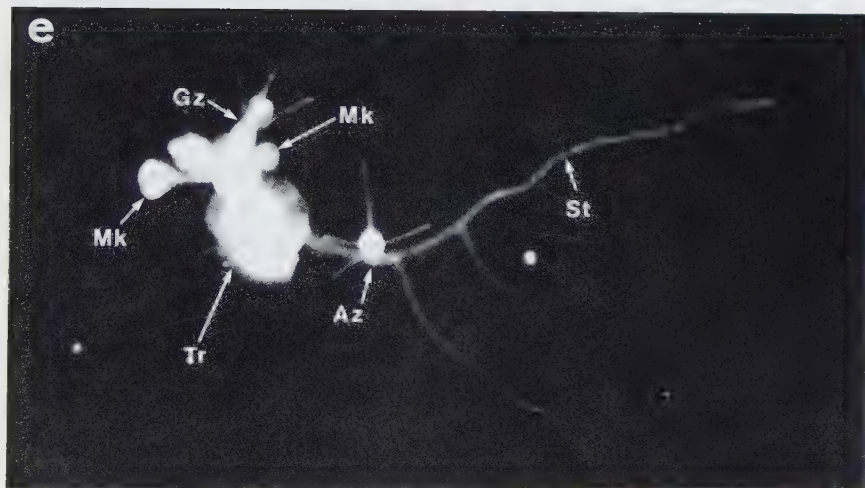
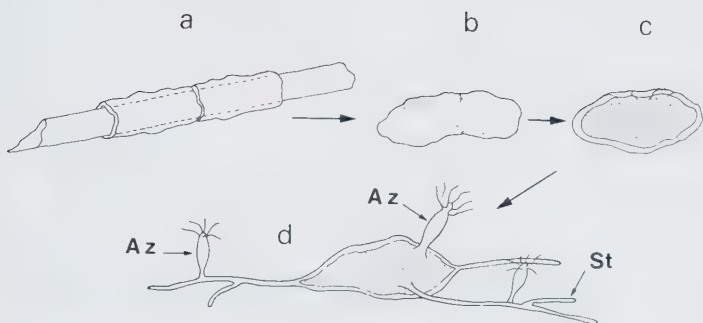


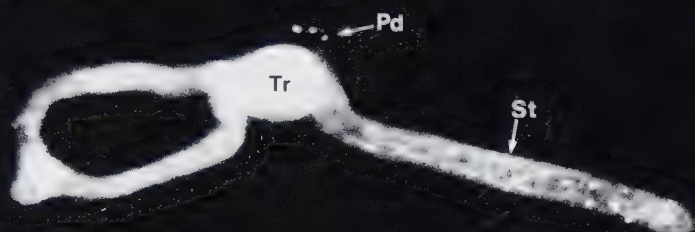
Abb. 16. Entwicklungsleistungen interklonaler Ekto-Entoderm-Chimären.

a) Situation 7 Tage nach Rekombination, durch die Ausbildung von Stolonen (St) wird das Transplantat (Tr) kleiner und dadurch wird das Periderm (Pd) sichtbar.

b) Gleiches Transplantat 30 Tage nach Rekombination, an weiter entwickelten Stolonen haben sich Autozoide (Az) gebildet.

(Vergr. a, 115x; b, 23x)

a



b



Tabelle 1. Verträglichkeitstests zwischen den Stolonen der Elternklone 2♂ und 6♀ einerseits und deren Kreuzungsprodukte(F₁); +, verträglich, Bildung von Anastomosen; -, unverträglich, keine Anastomosen

Getestete F ₁ -Klone	Stolonenverträglichkeit gegenüber	
	Klon 2♂	Klon 6♀
2x6 (1) ♂	-	+
2x6 (2) ♂	-	+
2x6 (3) ♂	+	-
2x6 (4) ♀	-	+
2x6 (5) ♀	+	+

Tabelle 2. Intra- und interklonale Parabiose zwischen autozoiden Polypen (vergl. Abb. 5,6); die daraus resultierenden Verträglichkeiten und Unverträglichkeiten und Eintritt der damit verbundenen Ereignisse(Versuchsdauer 30 Tage); *, in dieser Zeitangabe sind zwei Extremwerte von 17 und 38 Tagen nicht berücksichtigt

Kombi- nationen	Depressionen des Implantats		Abwurf des Implantats n	Zeitpunkt n	Resorption des Wirtspolypen Beginn n	Gemeinsame Depression bzw Resorption von Implantat und Wirt(n)	Resorption weiterer Polypen der Wirts- kolonie n	Beginn
	n	n						
TP ₂ - P ₂	5	0	0		0	0	0	
TP ₆ - P ₆	5	0	0		0	0	0	
TP ₂ - P ₆	9	9	7	6.1 ± 2.8	9	4.7 ± 1.6	2	5
				4.7 ± 1.6*				21.2 ± 7.5
TP ₆ - P ₂	5	5	4	6.3 ± 1.0	5	4.6 ± 2.3	1	3
				4.8 ± 2.6				17.0 ± 3.4

Tabelle 3. Parabiose nach intra - und interklonalem Austausch der Manubrien von Medusen (Kap. 3.1.3). Angaben über die Frequenz und das zeitliche Auftreten der damit verbundenen Ereignisse(Versuchsdauer 30 Tage); *, in dieser Zeitangabe ist ein Extremwert von 38 Tagen nicht berücksichtigt

Kombinationen	n	Transplantate mit Depressionsscheinungen	n	Vorübergehende Depressionsscheinungen der Meduse	n	Depression und Tod der Meduse	n	Regeneration des amputierten Wirtsmanubriums (Abb. 7)	n	Eiabgabe (Implantat, Regenerat, Rest von Wirtsmanubrium)	n
TM ₂ - M ₂	15	1	0	0	1	5	2	6.5 ± 2.1	0		
TM ₆ - M ₆	13	0	0	0	0		3	6.7 ± 1.1	13	2.3 ± 1.1	
TM ₂ - M ₆	16	3	2	17.5 ± 2.1	1	27	0		6	8.5 ± 4.8	
TM ₆ - M ₂	18	2	0	0	2	2 und 12 d	7	5.0 ± 0*	17	3.6 ± 2.8	

Tabelle 4. Heterotypische, sowie intra- und interklonale Parabiose zwischen Medusen
(Wirt) und Polypen(Donor). Frequenz und zeitlicher Verlauf der damit
verbundenen Ereignisse(Versuchsdauer 30 Tage)

Kombi- nationen	n	Resorption des Implantats n	Beginn	Regeneration des Wirts- manubriums n	Abschluss	Erste pathologische Deformationen der Meduse(Abb.9c) n	Beginn	Vollständige Desintegra- tion und Tod der Wirts- meduse n	Tod
TP ₂ - M ₂	4	4	2.0 ± 0	4	7.5 ± 0.8	0	0	0	
TP ₆ - M ₆	4	4	1.8 ± 0.5	4	8.5 ± 0.8	0	0	0	
TP ₂ - M ₆	4	4	1.8 ± 0.5	0		4	4.8 ± 1.5	4	11.8 ± 1.5
TP ₆ - M ₂	4	4	2.0 ± 0	0		4	4.0 ± 0	4	10.0 ± 1.2

Tabelle 5. Entwicklungsleistungen der intra- und interklonal erzeugten Reaggre-
gate von Stolonenzellen (Kap. 3.2.1.). Frequenz und zeitlicher Ver-
lauf der beobachteten Prozesse

Kombi- nationen	n	Aggregate ohne morphogenetische Aktivität bis zum 32. Tag	Aggregat haftet mit neugebildetem Periderm am Boden		Stolonenbildung		Polypenbildung	
			n	Zeitpunkt	n	Beginn	n	Beginn
AS ₂ + S ₂	5	0	5	6.2 ± 2.6	5	7.6 ± 2.6	5	17.4 ± 9.4
AS ₆ + S ₆	5	1	4	10.3 ± 3.0	4	12.5 ± 3.1	4	21.0 ± 5.0
AS ₂ + S ₆	11	1	10	7.8 ± 4.4	10	12.3 ± 7.5	10	21.6 ± 15.5

Tabelle 6. Entwicklungsleistungen der intra- und interklonal erzeugten Reaggregate von Polypenzellen (Kap. 3.2.2.). Frequenz und zeitlicher Verlauf der beobachteten Prozesse.

Kombinationen	n	Aggregate ohne morphogenetische Aktivität bis zum 21. Tag		Aggregat haftet mit neugebildetem Periderm am Boden		Stolonenbildung		Polypenbildung	
		n	zum 21. Tag	n	Zeitpunkt	n	Beginn	n	Beginn
AP ₂ + P ₂	10	5		5	3.8 ± 1.7	5	5.0 ± 0	5	8.0 ± 1.5
AP ₆ + P ₆	10	0		10	8.4 ± 5.2	5	5.6 ± 1.3	1	58
AP ₂ + P ₆	11	6		5	11.2 ± 8.6	3	8.0 ± 3.6	2	19.0 ± 0

Tabelle 7. Entwicklungsleistungen der intra- und interklonal erzeugten Reaggregate von Medusenzellen(Kap. 3.2.3). Frequenz und zeitlicher Verlauf beobachteter Prozesse.

Kombinationen	n	Aggregate die ohne morphogenetische Leistung zerfielen		morphogenetisch aktive Aggregate die zerfielen		Flagellenbildung		Tentakelregeneration		Manubriumbildung		Gonadenbildung	
		n	Tod	n	Tod	n	Beginn	n	Beginn	n	Beginn	n	Beginn
$AM_2 + M_2$	18	3	11.3 ± 10.6	5	15.2 ± 3.4	14	8.6 ± 4.4	5	8.6 ± 5.1	5	8.4 ± 4.0	6	14.5 ± 4.7
$AM_6 + M_6$	25	2	12.0 ± 5.7	5	17.2 ± 6.4	17	8.1 ± 2.8	18	8.4 ± 2.9	17	8.1 ± 2.7	7	15.6 ± 9.2
$AM_2 + M_6$	24	4	10.0 ± 4.3	8	17.6 ± 9.2	13	9.5 ± 6.0	5	9.0 ± 3.8	10	7.0 ± 3.2		

Tabelle 8. Entwicklungsleistungen der heterotypischen, intra- und interklonal erzeugten Reaggregate von Polypen und Medusen (Kap. 3.2.4.). Frequenz und zeitlicher Verlauf der beobachteten Prozesse.

Kombinationen	Aggregate die ohne morphogenetische Leistung zerfielen		morphogenetisch aktive Aggregate die zerfielen		Flagellenbildung		Tentakel- oder Manubriumbildung		Gonadenbildung		Peridermbildung	
	n	Tod	n	Tod	n	Beginn	n	Beginn	n	Beginn	n	Beginn
AP ₂ + M ₂	9	0	2	20.5 ± 2.1	5	7.6 ± 2.0	9	9.6 ± 3.6	2	16.0 ± 1.4	5	22.4 ± 3.0
AP ₆ + M ₆	11	0	4	29.8 ± 4.4	9	10.6 ± 2.7	10	10.4 ± 4.3	4	19.8 ± 0.9	2	20.0 ± 1.4
AP ₂ + M ₆	10	4	22.5 ± 10.2	0	1	9	4	8.5 ± 2.1	0		4	21.8 ± 5.3
AP ₆ ± M ₆	13	1	25	2	16.0 ± 1.4	3	11.7 ± 4.0	7	8.7 ± 2.7	0	7	22.1 ± 1.8

Tabelle 9. Verhalten und Entwicklungsleistungen von isolierten und interklonal wiedervereinigten Keimschichten(Ektoderm, Entoderm) der autozoiden Polypen(Kap. 3.2.o). Häufigkeit und zeitliches Auftreten der beobachteten Ereignisse; a, heteroklonale Rekombination von isoliertem Ektoderm; b, heteroklonale Rekombination von Ekto- und Entoderm

Parabiose- typen	Kombi- nationen	Trennung der Parabiosepartner		keine Entwick- lungsleistungen nach 23 Tagen	Bildung eines Periderms und haften am Boden		Stolonenbildung		Polypenbildung		
		n	n		n	n	n	n	n	n	
a	TP ₂ - P ₆	8	2	11.0 ± 5.7	0	6	9.0 ± 4.3	4	10.3 ± 4.4	6	14.7 ± 7.2
b	TP ₂ - P ₆	12	0		1	11	6.4 ± 2.5	8	7.9 ± 3.6	0	
b	TP ₆ - P ₂	12	0		1	11	6.6 ± 2.9	9	7.1 ± 3.0	2	18.0 ± 4.2

C U R R I C U L U M V I T A E

von Max Bühner, geboren am 22. Januar 1946 in Schaffhausen,
Bürger von Neuhausen am Rheinfall (SH), Schweiz.

Vorbildung: 1953-1962 Elementar- und Realschule in Neuhausen
am Rheinfall

1962-1966 Kantonsschule Schaffhausen

1966-1970 Akademikergemeinschaft Zürich

1970 Eidgenössische Maturitätsprüfung, Typus C

Studium: 1970-1975 Biologiestudium an der Philosophischen
Fakultät II der Universität Zürich mit Zoologie
im Hauptfach und Botanik, Anatomie und
Anthropologie, Chemie und Mathematik als
Nebenfächer

1975 Diplomprüfung

1975-1976 (Sept.-Aug.) Forschungsaufenthalt auf
Kreta im Auftrag der Kommission für Ozeanographie
und Limnologie der Schweiz. Natur-
forschenden Gesellschaft

1976-1981 Halbassistent am Zoologischen Institut
der Universität Zürich. (Dez. 1976- Dez. 1977:
kantonale Halbassistent; Dez. 1977- Apr. 1981:
Doktorandenstipendium des "Schweiz. Nationalfonds zur Unterstützung der Wissenschaftlichen Forschung").

Während meines Studiums an der Universität Zürich besuchte ich
bei folgenden Dozenten Vorlesungen und Praktika:

W.Angst, G.Bächli, E.Batschelet, J.Biegert, M.Birnstiel, H.Bolli,
H.J.Bosshard, H.Burla, P.S.Chen, C.Claude, C.D.K.Cook, J.Deák,
A.Dübendorfer, P.Endress, C.H.Eugster, M.Greuter, E.Hadorn,
H.Hediger, H.Heusser, H.R.Hohl, T.Honegger, R.Hunsperger,
E.Jungen-Hauschteck, H.Jungen, H.Keller, A.Krämer, S.Kubik,
E.Kubli, E.Kuhn, H.Kummer, F.Kurt, P.Lampsides, W.Leuthold,
I.de Mendoza-Heuer, B.Nievergelt, R.Nöthiger, H.Oswald, D.Rast,
O.Rohweder, U.P.Roos, W.Sauter, H.Schaeppi, W.Schärer, M.Schatzmann,
J.Schlitter, H.Schmid, V.Schmid, W.Stumm, B.Stüssi,
P.Tardent, E.Thomas, H.Tobler, B.Van der Waerden, H.Wanner,
L.Weber, R.Weher, K.Widmer, O.Woodtli, A.Wyler, V.Ziswiler

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von
Prof. Dr. P. Tardent am Zoologischen Institut der Universität Zürich.

